COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB9

N-
ERG'S

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

198. BAND

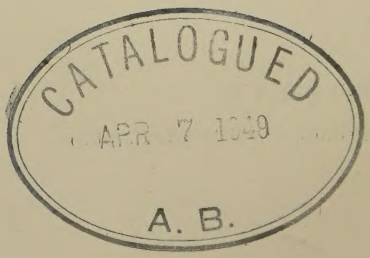
MIT 193 TEXTABBILDUNGEN (277 EINZELBILDERN)

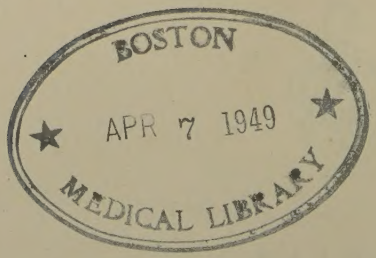
BERLIN

SPRINGER-VERLAG

1941

Printed in Germany





Inhalt des 198. Bandes

Seite

Amann, A., A. Jarisch und **H. Richter,** Reflektorische Kreislaufwirkungen des Histamins. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern) 158

Barth, Fritz, s. Walther Laubender.

Biehler, W. und **H. Wollschitt,** Beitrag zur statistischen Beurteilung biologischer Wirkungen. Mit 14 Textabbildungen (26 Einzelbildern) 278

Bomskov, Christian, Kurt Nikolai von Kaulla und **Johann Maurath,** Über die Wirkung von Sterinderivaten auf den Stoffwechsel. I. Mitteilung: Die Wirkung von Digitalissubstanzen auf den Grundumsatz. Mit 3 Textabbildungen 213

Bomskov, Christian, und **Kurt Nikolai von Kaulla,** Über die Wirkung von Sterinderivaten auf den Stoffwechsel. II. Mitteilung: Über die Wirkung der Digitalissubstanzen auf Leber-, Herz- und Muskelglykogen. Mit 3 Textabbildungen 232

Brock, Norbert, Über die Bedeutung der Ringerlösung. I. Mitteilung. Mit 21 Textabbildungen 609

Brock, Norbert, und **Hermann Druckrey,** Über die Bedeutung der Ringerlösung. II. Mitteilung 644

Brücke, Franz Th. v., Über die zentral erregende Wirkung des Alkaloides Cathin. Mit 1 Textabbildung (6 Einzelbildern) 100

Domenjoz, R., s. W. Straub.

Druckrey, Hermann, und **Hans Uhlig,** Ein einfacher Ordinatenschreiber. Mit 2 Textabbildungen 74

Druckrey, Hermann, s. Norbert Brock.

Eckel, Kurt, Über die Aufnahme von Stromdosiskurven mit Wechselstrom. Mit 6 Textabbildungen 407

Eichler, Oskar, Versuche, um Gesetzmäßigkeiten in der Verteilung und Empfindlichkeit im Zusammenhang mit Veränderungen der extracellulären Räume bei mit Na J behandelten Fröschen aufzufinden. Mit 4 Textabbildungen 442

Seite

Eucker, Heinrich, Die Prüfung der Gallenwirksamkeit des Divanillalcyclohexanons (Flavugal) im Duodenalsondenversuch 140

Fazekas, I. Gy., Die Steigerung der Nebennierenrindenfunktion 165

Fleischmann, Georg, s. Werner Koll.

Frey, Ernst, Einfluß der wasserlöslichen Vitamine auf die Wirkung der Muskelgifte am Frosch 34

Geilenkirchen, H., Reflektorische Kreislaufwirkung des Aconitins. Mit 2 Textabbildungen 152

Genuit, H., Quantitative Untersuchungen über Azetylcholinfreisetzung am Herzen bei elektrischer und pharmakologischer Vagusreizung. Mit 8 Textabbildungen 561

Genuit, H., und **K. Labenz,** Über die Wirksamkeit der Cholinesterase im intakten Herzmuskel des Warmblüters und ihre Beeinflußbarkeit durch verschiedene Pharmaka, besonders die Narkotica. Mit 1 Textabbildung 369

Göbell, O., und **H. Lang,** Die Wirkung des Nikotinsäureamids auf die durch Kobaltsulfat erzeugte Polyglobulie beim Kaninchen..... 70

Hahn, Fritz, Zur Methodik des Nachweises der zentralanaleptischen Blutdrucksteigerung. Mit 7 Textabbildungen 472

Hahn, Fritz, Vergleichende Untersuchungen über die Krampf- und Blutdruckwirkung verschiedener Analeptica. Mit 8 Textabbildungen 491

Hahn, Fritz, Vergleichende Untersuchungen über die Krampf- und Blutdruckwirkung einiger Analeptica an dekapitierten Katzen. Mit 6 Textabbildungen 509

Harren, Franz, Der Nachweis von CS_2 bei der chronischen CS_2-Vergiftung und sein Verhalten im Organismus. Mit 7 Textabbildungen 178

Hörlein, Heinrich, Pharmakologische Untersuchungen über das Xanthopterin. Mit 8 Textabbildungen 258

Huf, Ernst, Die Reaktion der Ovarien normaler und hypophysektomierter Ratten auf Prolan nach Vorbehandlung mit natürlichem und künstlichem Brunststoff. Mit 4 Textabbildungen (10 Einzelbildern)... 587

Ivančević, I., s. P. Stern.

Jarisch, A., s. A. Amann.

Seite

Jeney, A. v., und **Martha Plessa,** Die Wirkung der Kynurensäure auf die Zellatmung 431

Jeney, A. v., T. v. Vályi-Nagy, J. Magyari und **I. Mihalik,** Die Wirkung der Polypeptide auf die Gewebsatmung 437

Jiřina, Karel, Über den Einfluß einiger Sperrflüssigkeiten und spezieller Antikoagulationspräparate auf die Gerinnung des Blutes..... 292

Kaulla, Kurt Nikolai von, s. Christian Bomskov.

Keeser, Ed., Untersuchungen über den Cholesterinstoffwechsel..... 536

Keeser, Ed., Untersuchungen über den Cholesterinstoffwechsel. (Zur Wirkungsweise der Artischocke.) II. Mitteilung 683

Kesarbani, D. N., Gewöhnungsversuche mit Dolantin am Meerschweinchendarm. Mit 4 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 114

Kesarbani, D. N., s. Ed. Rentz.

Kesztyüs, L., und **St. Went,** Über die physiologischen Wirkungen einiger Amino- und Nitrobrenzcatechin-Verbindungen und Adrenalylazoproteine..... 338

Koll, Werner, und **Georg Fleischmann,** Messungen der analgetischen Wirksamkeit einiger Antipyretica am Hund..... 390

Kollath, Werner, und **Emmy Thierfelder,** Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung. 15. Mitteilung: Bedeutung der Wuchsstoffe in Mehl und Brot. Mit 9 Textabbildungen..... 195

Konzett, Heribert, Wirkungsunterschiede optisch isomerer Phenyl- und Oxyphenylalkylamine. Mit 6 Textabbildungen (14 Einzelbildern) 345

Konzett, Heribert, Der Einfluß von Ultraviolettbestrahlung auf adrenalinähnliche Körper. II. Mitteilung: Äthyl- und Isopropyladrenalin. Isopropylsympatol. Mit 6 Textabbildungen (19 Einzelbildern)... 355

Konzett, Heribert, Der Einfluß von Ultraviolettbestrahlung auf adrenalinähnliche Körper. III. Mitteilung: Ephedrin, Oxy- und Dioxyephedrine. Mit 4 Textabbildungen (13 Einzelbildern) 361

Labenz, K., s. H. Genuit.

Lang, H., s. O. Göbell.

Seite

Laubender, Walther, und **Fritz Barth,** Der Einfluß chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf die Ca-Ausscheidung und die Azidität im Kaninchenharn. Mit 1 Textabbildung 5

Laubender, Walther, und **Bodo Mertz,** Die Wirkung chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf das Säure-Basengleichgewicht des Blutes beim Kaninchen. Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern) 12

Leipert, Th., und **L. Loucopoulos,** Zur Toxikologie der Stilbene. Mit 1 Textabbildung 299

Liebert, Philipp, Untersuchungen über den Oxytocin-Vasopressin-Gehalt des Hypophysenhinterlappens der Ratte und dessen Verhalten nach Kochsalz- und Wasserbelastung oder kochsalzfreier Ernährung. Mit 3 Textabbildungen 87

Lissák, K. und **W. Várterész,** Wirkung des Tetanustoxins auf die glatten Muskelfasern und sympathischen Ganglien. Mit 4 Textabbildungen (9 Einzelbildern) 662

Lissák, K., s. J. Martin.

Loucopoulos, L., s. Th. Leipert.

Magyari, J., s. A. v. Jeney.

Martin, J., und **K. Lissák,** Azetylcholinempfindlichkeit und Vitamin B_1. Mit 6 Textabbildungen (11 Einzelbildern) 667

Maurath, Johann, s. Christian Bomskov.

Mertz, Bodo, s. Walther Laubender.

Mihalik, I., s. A. v. Jeney.

Moeschlin, S., und **W. Wildermuth,** Das Verhalten des Blutzuckers bei der experimentellen CO-Vergiftung und bei der Stickstoffatmung. Ein Beitrag zur Frage der spezifisch toxischen Wirkung des Kohlenoxyds. Mit 5 Textabbildungen 414

Oelkers, H.-A., und **W. Rathje,** Zur Wirkungsweise der Anthelminthica. Mit 3 Textabbildungen 317

Orzechowski, Gerhard, Über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. IX. Die stoffliche Blockade spezifischer Grenzflächen als Ursache der Tachyphylaxie der Sympathicomimetica. Beeinflussung der Adrenalinoxydase 27

Seite

Osterwald, K. H., Das Verhalten der Hirndurchblutung im Cardiazolkrampf. Mit 5 Textabbildungen 245

Petersen, Christian, Studien über Methämoglobinbildung. XX. Mitteilung: Ortho-Aminophenol und Nitrosobenzol. Mit 3 Textabbildungen 675

Plessa, Martha, s. A. v. Jeney.

Rathje, W., s. H.-A. Oelkers.

Rentz, Ed., Die Cholinesterase im anaphylaktischen Schock und dessen Beeinflußbarkeit durch Methylenblau 385

Rentz, Ed., und **D. N. Kesarbani,** Gewöhnung des Meerschweinchendarms an Morphin. Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern)..... 107

Richter, H., s. A. Amann.

Riechert, Willi, und **Hermann Schmieder,** Vergleichende pharmakologische Untersuchungen der Adrenalin-Ephedrinkörper. Mit 3 Textabbildungen (8 Einzelbildern) 121

Schaumann, O., Versuche über die gegenseitige Beeinflussung der Resorption und resorptiven Wirkung von Novocain (Pantocain) und Suprarenin (Corbasil) 305

Schmieder, Hermann, s. Willi Riechert.

Simon, Alexander, Über die Blutdruck- und Darmwirkung alkoholischer Harnauszüge. Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 528

Stern, P., und **I. Ivančević,** Veratrin und Adrenalinreaktion. Mit 2 Textabbildungen..... 557

Straub, Walther, Das Problem der Abbildungen in diesem Archiv, ein redaktionelles Klagelied..... 1

Straub, Walther, Über Zeit/Menge-Beziehungen bei der Digitalisauswertung nach Knaffl-Lenz am Meerschweinchen. Mit 1 Textabbildung 189

Straub, W., und **R. Domenjoz,** Weitere Untersuchungen über die Coffeinstarre am ausgeschnittenen Muskel des Frosches. Mit 6 Textabbildungen (11 Einzelbildern) 79

Ströder, Josef, Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf die Permeabilität der Blutgefäßwand für Wasser und Salze. (Kurze Mitteilung.) Mit 1 Textabbildung 604

Seite

Thierfelder, Emmy, s. Werner Kollath.

Uhlig, Hans, s. Hermann Druckrey.

Vályi-Nagy, T. v., s. A. v. Jeney.

Várterész, W., s. K. Lissák.

Walther, Richard, Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe. III. Die Bedeutung der Vagusausschaltung für die Wirkung von Digitoxigenin auf das Elektrokardiogramm der Katze 543

Went, St., s. L. Kesztyüs.

Wildermuth, W., s. S. Moeschlin.

Wollschitt, H., s. W. Biehler.

Zain, H., Verhalten der aus erythrocytären Parasitenformen hervorgegangenen E-Stadien des Plasmodium gallinaceum. Mit 2 Textabbildungen (3 Einzelbildern) 551

Das Problem der Abbildungen in diesem Archiv,

ein redaktionelles Klagelied.

Von

Walther Straub.

Vielfach, und besonders in letzter Zeit sich mehrend, sind die Fälle, daß einer der Redaktion eingesandten Arbeit Abbildungsmaterial beigegeben wird, das aus irgendeinem Grunde unzulänglich ist. Es soll deshalb mit Nachdruck nochmals betont werden, was in diesem Punkte von redaktioneller Seite gewünscht wird.

Die Abbildungen, besonders die Kurven, sollen zur einfachen Erläuterung eines willkürlich jederzeit unter den gegebenen Umständen reproduzierbaren Vorgangs dienen. Sie sollen also grundsätzlich nicht die Rolle eines einmaligen Naturdokumentes spielen. Daraus ergibt sich schon, daß der Autor mit einem Minimum von Abbildungen auskommen soll, und daß Variationen dieser Abbildungen, wie sie durch Variationen der Methodik sich ergeben, entbehrlich sind, und meistens durch Text ersetzt werden können. Die als Begleiter der Arbeit benötigten Abbildungen sollen spezielle Reproduktionsbilder sein, und als solche auch speziell hergestellt werden. Was im Laufe einer experimentellen Untersuchung an Material anläuft, ist nur selten ohne weiteres reproduzierbar.

Rußkurven machen das Hauptmaterial der Archivbilder aus. Deren Vorlagen enthalten am meisten Beanstandbares für die Redaktion und den Herausgeber, so daß eine Aufklärung über das Thema: „Wie macht man gut reproduzierbare Rußkurven" am Platze zu sein scheint. Der Autor, der sich soviel Mühe mit der graphischen Darstellung gegeben hat, ist natürlich verliebt in seine Kurven und hält sie für die schönsten in der Welt. Die Redaktion ist oft anderer Meinung.

Haupterfordernis einer gut reproduzierbaren Rußkurve ist, daß sie mit schneeweißem Strich auf dunklem Grund hergestellt wird. Es ist aber gar nicht nötig, daß gerade ein pechschwarzer Grund vorliegen soll, in den die schneeweißen Striche sich eingraben. Die Pechschwärze entsteht von selbst durch die Druckerschwärze der endlichen Abbildung. Der Strich soll nur die weiße Oberfläche des Glanzpapiers freilegen. Das

Ganze ist eine Art von Radiertechnik. Beim Berußen schon wird oft einem wilden Dilettantismus gehuldigt. Es wird nur darauf geachtet, einen möglichst schwarzen Grund zu haben, meistens auf Kosten des Untergrundes. Dieser verbrennt leicht, wird braun wie Packpapier und rauh wie Sandpapier, aber trotzdem leider noch zum „Forschen" benutzt.

Mancher Autor meint vielleicht, daß seine Naturdokumente durch einfache Photographie im Archiv verewigt werden können. Das stimmt aber nicht. Sie müssen alle erst mit der Hand nachgearbeitet werden. Dann erst geht das Bild auf die Zinkplatte. Wenn also der Autor auf seinem verbrannten Papier seine Beobachtungen aufgezeichnet hat, ist der Strich wegen der Rauheit des Papiers zerfahren und nicht mehr klar. Der Zeichner kennt sich schwer aus. Es gibt Rückfragen, die ja bekanntlich zum Lästigsten in der Welt gehören.

Die Rußkurven werden mit der Schreibfahne des Schreibhebels geschrieben. Die Fahne muß also möglichst spitz und scharf sein, darf aber nicht hängen bleiben. Man gewöhne sich an die Zeichnungsverhältnisse, die sich ergeben, wenn man mit der stumpfwinkligen Spitze eines dünnen, elastischen Ölpapierstreifens schreibt. Dann bekommt man feinste Striche auf schneeweißem Grund, die der Reproduktionsanstalt Freude machen. Mit einem Besenstiel, wie anscheinend oft versucht wird, und auf verbranntem Papier geht es weniger gut.

Die fertige Kurve ist auch bei der besten Lackierung noch recht verletzbar, und die Post bringt es fertig, so einer Kurve noch alle möglichen Kratzer beizubringen, die sie schwer leserlich machen und die Reproduktionsanstalt in Verlegenheit bringen. Darum müssen die Rußkurven-Originale gestützt und geschützt werden, das eine, indem man sie auf Karton aufklebt, das andere, indem man die beschriebene Vorderseite mit einem Schutzblatt dünnen Papiers versieht.

Zu bedenken hat der Autor ferner, daß seine Vorlagen in den meisten Fällen verkleinert werden müssen, nicht aus Bosheit oder Gewinnsucht, sondern aus typographischen Erwägungen, deren oberste die ist, daß die Fläche für die Abbildung allerhöchstens eine Archivseite ausmachen kann. Darum achte man bei der Herstellung der Kurven schon darauf, daß sie als Vorbild noch eine Verkleinerung aushalten und nicht etwa Striche verloren gehen, die auf der berußten Trommel noch gut leserlich waren. Manch ein Autor kennt seine Kunstwerke im reproduzierten Zustande nicht wieder und fängt an zu reklamieren.

Noch etwas anderes ist bei der Verkleinerung zu bedenken. Die Verkleinerung erfolgt natürlich linear. Wenn also ein Vorbild, z. B. eine Blutdruckkurve, wie sie manchmal als ganzer Trommelumfang des Kymographionpapiers eingeliefert wird, auf das nötige Maximum einer Archivseite verkleinert wird, so wird die 50 cm lange Kurve wohl ihrer Länge nach in die Seite hineinpassen, aber gleichzeitig wird ihre Breite von

mindestens 15 cm im gleichen Maßstabe verkleinert. Dadurch können alle angenähert linearen Vorgänge der Kurve unscheinbar werden. Wichtige, aber nicht sehr große Blutdruckschwankungen erscheinen als eine angenäherte gerade Linie und wirken gar nicht überzeugend. Hier müßte schon bei der Aufnahme der Kurven darauf gesehen werden, daß durch entsprechende Hebelvergrößerung usw. die Ausschläge groß und verkleinerbar werden. Nebenbei bemerkt wird es als grober Unfug empfunden, wenn der Autor seinem Manuskript eine Rolle unmontierte, unbeschriftete Kymographionblätter, womöglich noch als besondere postalische Sendung beigibt, und es der Phantasie von Redaktion und Reproduktionsanstalt überläßt, sich in dem zerkratzten Zeug zurechtzufinden. Es dürfte verständlich sein, wenn die Redaktion eine derartige saloppe Arbeit a priori ablehnt.

Außer den unmittelbaren Rußkurven kommen sehr oft auch mittelbar abgeleitete Kurven zur Abbildung. Sie werden oft überdimensioniert vom Autor gezeichnet. Die einzelnen Striche stören sich vielleicht noch nicht. Es kann aber eintreten, daß sie durch Formatreduktion auf vernünftige Dimensionen in arge Kollission kommen, so daß sie der Leser kaum mehr auseinanderhalten kann. Auch hier überlege man sich, ob und welche Verkleinerung die Abbildungen noch aushalten. Der Raum von $^1/_4$ Druckseite ist in diesem Falle schon reichlich und sollte eingehalten werden. Solche Wandgemälde, die vielleicht ein Laboratorium schmücken mögen, einem Manuskript beizugeben, wird als sehr lästig empfunden, sowohl von Postboten, wie von Redaktionen.

Alles in allem werden die Autoren gut tun, sich in ihrer Phantasie vorzustellen, wie ihre Arbeit ungefähr im Druck aussehen wird, und wie sie die Abbildungen dort unterbringen können. Das ist in erster Linie ihre Sache und später erst die der Druckerei.

Noch etwas Wirtschaftliches sollte sich der Autor überlegen. Die gewöhnlichen Abbildungen, Weiß-Schwarz-Kurven z. B. haben Herstellungskosten, die die gewöhnlichen Satzkosten wesentlich überschreiten, ungefähr um das Neunfache. Wenn die Herstellungskosten eines Druckwerkes den Verkaufspreis bestimmen, können die abnorm hohen Abbildungskosten auf den Käufer abgewälzt werden, wiewohl auch der sich nicht freut, wenn er ein nicht gewünschtes Bilderbuch bezahlen muß. Wenn aber, wie in diesem Archiv, ein fixer Bandpreis eingehalten werden muß, so kann dieser fixe Preis eben nur eingehalten werden, wenn in den Herstellungskosten ein ebenfalls fixer Abbildungsetat einkalkuliert ist. Wenn ein Autor mit seinen Abbildungsanforderungen den Etat überschreitet, muß seine Arbeit zurückgestellt werden, bis durch andere abbildungslose Arbeiten anderer Autoren wieder Etatmittel eingespart werden, oder es muß auf anderem Wege für einen Ausgleich der Mehrkosten gesorgt werden. Der Etat muß eingehalten werden, denn Preisfixum ist ein wirtschaftlicher Segen, nicht nur bei Eiern und Butter, sondern auch bei der Wissenschaft.

Farbige Abbildungen werden in letzter Zeit oftmals gewünscht und wohl in Zukunft noch mehr, besonders seit das farbige Bild so leicht und gut herstellbar ist und ebenso leicht vergrößert reproduziert werden kann. Die Wünsche sind verständlich — aber der Preis! Das Farbfilmbild ist 58mal so teuer als die gleiche Fläche Drucksatz. Es ist unmöglich, diesen Mehrpreis im Archivetat unterzubringen. Nur Druckschriften mit Riesenauflagen können sich so etwas erlauben. Da der Mehrpreis auch nicht auf den Käufer abgewälzt werden kann, kann er nur vom Autor oder durch Sonderfonds getragen werden.

Tabellarische Zusammenstellungen gehören schließlich auch hierher. Tabellensatz dauert länger als Textsatz und kostet daher mehr als das Doppelte. Hier wird viel gesündigt. Der Autor frage sich, ob wirklich alle Stäbe einer Tabelle nötig sind; müssen Stäbe erscheinen, deren Werte nur durch Umrechnung eines vorherigen Stabes sich ergeben — das kann der Leser auch machen — müssen überhaupt viele Einzelwerte mitgeteilt werden? Die Glaubwürdigkeit des Autors ist ein Individualfaktor und steht oft im umgekehrten Verhältnis zum Zahlenwust, mit dem der Leser belästigt wird.

Das wären so die Hauptpunkte zu unserem Thema, die ich meinen geehrten Mitarbeitern einmal vorstöhnen möchte.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.

Der Einfluß chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf die Ca-Ausscheidung und die Azidität im Kaninchenharn.

Von

Walther Laubender und **Fritz Barth.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 27. Mai 1941.)

Einleitung.

Die von Meduna[1] inaugurierte Krampftherapie der Schizophrenie, die anfänglich mit Insulin und Campher, später vorwiegend mit Cardiazol durchgeführt wurde, scheint nach der vorliegenden klinischen Literatur[2] nicht selten zu Frakturen der Wirbelsäule und manchmal auch anderer Skeletteile bei den Patienten geführt zu haben. Für die Erklärung dieser Vorkommnisse konnten zunächst zwei Gesichtspunkte herangezogen werden: Es war einerseits möglich, daß die ungemein heftigen Muskelkontraktionen während des Krampfanfalls eine so starke Überbelastung des Skeletsystems bedeuteten, daß die Festigkeit des an sich normalen Knochens solchen Anforderungen gelegentlich nicht gewachsen war. Andererseits war denkbar, daß die im Laufe der Cardiazolbehandlung eintretende Stoffwechseländerung auch das Skeletsystem in Mitleidenschaft zog und zu einer Herabsetzung der Zug- und Druckfestigkeit desselben führte, die in den beobachteten Frakturen in Erscheinung trat.

In einer Reihe von klinischen und experimentellen Arbeiten[3] wurde festgestellt, daß durch Cardiazolkrämpfe eine beträchtliche Azidosierung des Organismus stattfindet. Da nun nach der Ansicht vieler Autoren eine Azidosierung, besonders in Form einer chronischen, zu Ca-Verlusten[4]

---

[1] v. Meduna, L.: Die Konvulsionstherapie der Schizophrenie, Halle a. S. Carl Marhold, 1937. — [2] Wespi: Schweiz. Arch. Neur. **42**, 404 (1938); Polatin, Friedman, Harris u. Horwitz: J. amer. med. Assoc. **112**, 1684 (1939); Polatin, Friedman, Harris u. Horwitz: Proc. Amer. Psych. Meet., Chicago 1939; Stalker, Millar u. Jacobs, Lancet **236**, 437 (1939), I.; Bennett u. Fitzpatrick: J. amer. med. Assoc. **112**, 2240 (1939); Valsö, J.: Klin. Wschr. **18**, 915 (1939); Hamsa u. Bennett: J. amer. med. Assoc. **112**, 2244 (1939); Dedichen: Nordisk Medizin **3**, 2101 (1939); Palmer: Lancet **237**, 181 (1939), II; Speijer u. Klein: Ndld. Tschr. Genesk. **83**, 5164 (1939), IV; Kraus u. Viersma: Ndld. Tschr. Genesk. **83**, 4914 (1939), IV. — [3] Maurer, Wiles, Marberg, Skorodin u. Fisher: Amer. J. Psychiatry **94**, 1355 (1938); Low, Sonenthal, Blaurock, Kaplan u. Sherman: Arch. Neur. **39**, 717 (1938); Horwitt, Steinberg u. Liebert: Elgin Papers **3**, 61 (1939); Selbach, H.: Z. Neur. **160**, 334 (1937). — [4] Logan, M. A.: J. biol. Chem. (Am.) **109**, 481 (1935).

und im Gefolge davon zur Herabsetzung der Knochenfestigkeit bis zu den Erscheinungen der Osteomalazie [5] führen kann, war der Gedanke naheliegend, daß auch an den im Verlauf der Cardiazolkrampftherapie zu beobachtenden Frakturen ein im Zusammenhang mit der Azidosierung stehender Ca-Verlust des Organismus namhaft beteiligt sein könne.

Zur Klärung dieser Sachlage wurde in der vorliegenden Arbeit der Einfluß chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf die Ca-Ausscheidung und die Azidität im Harn bei Kaninchen untersucht. Die Wahl des Kaninchens als Versuchstier schien deshalb besonders zweckmäßig, weil bekanntlich das Kaninchen im Gegensatz zu Katze und Hund Säuerungen nicht durch Bereitstellung von Ammoniak zu kompensieren vermag, sondern gezwungen ist, seine fixen Alkalien, darunter auch Calcium, zur Verfügung zu stellen. Der vermutete Zusammenhang mußte also an dieser Tierart am ehesten aufdeckbar sein.

Methodik.

Eine Serie von 7 Kaninchen wurde in zwei Gruppen von 4 bzw. 3 Tieren geteilt. Die eine Gruppe erhielt 9 Wochen lang im Abstand von 2—3 Tagen Cardiazol in krampfmachender Dosis intravenös (Ohrvene) injiziert, so daß jedes der Tiere insgesamt 19—24 Krampfanfälle durchmachte. Es wurde begonnen mit einer Dosis von 12 mg/kg Cardiazol in 5%iger Lösung. Die Dosen mußten im Laufe der 9wöchigen Versuchsperiode langsam gesteigert werden und erreichten am Ende Werte von 15—18 mg/kg Cardiazol, woraus auf eine Gewöhnung der Tiere zu schließen ist. Die zweite Gruppe der Tiere, die als Kontrolle diente und unter denselben äußeren Bedingungen gehalten wurde, erhielt im selben zeitlichen Abstand entsprechende Mengen einer 0,9%igen NaCl-Lösung intravenös injiziert. Die Fütterung der Tiere, die in Stoffwechselkäfigen gehalten wurden, bestand aus Hafer, Heu und Wasser.

Die Ca-Bestimmungen wurden laufend im 24-Stunden-Harn der Tiere, der durch Abdrücken abgegrenzt wurde, nach der Methode von Wang [6] vorgenommen. Die Methode beruht darauf, die bei der Ca-Fällung störenden Harnbestandteile durch Trichloressigsäure- und Tierkohlebehandlung zu entfernen und im fast wasserklaren Filtrat die Fällung mit Ammoniumoxalat bei bestimmtem p_H (5,0) vorzunehmen; der Niederschlag wird mit einer ammoniakhaltigen Mischung gleicher Teile Alkohol, Äther und destillierten Wassers gewaschen. In Vorversuchen mit verschiedenem Calciumzusatz zu Kaninchenharn und mit wechselnden Verdünnungen überzeugten wir uns von der Brauchbarkeit der Methode, die besonders für Reihenversuche sehr zweckmäßig ist. Da die Kaninchenharne in der Regel ziemlich konzentriert und verhältnismäßig Ca-reich sind, gingen wir folgendermaßen vor: 5 ccm des durch kräftiges Schütteln möglichst homogenisierten 24-Stunden-Harns (die Kaninchenharne enthalten sehr häufig schon nach kurzem Stehen mehr oder minder dicke Niederschläge!) wurden mit 35 ccm Wasser verdünnt, hierauf 10 ccm 20%iger Trichloressigsäure und etwa 0,8 g Tierkohle zugegeben. Die Mischung wurde geschüttelt, etwa 15—20 Minuten unter gelegentlichem Umschütteln stehengelassen und dann durch ein aschefreies Filter filtriert. Der Ansatz wurde zur Sicherheit

---

[5] White, E. P. C.: Arch. int. Med. (Am.) **30**, 620 (1922); Miles, L. M., u. Ch. T. Feng: J. exper. Med. (Am.) **41**, 137 (1925); Bečka, J.: Schweiz. Arch. Tierheilk. **73**, 173 (1931). — [6] Chi Che Wang: J. biol. Chem. (Am.) **111**, 443 (1935).

stets doppelt gemacht und je 4 ccm des in der Regel wasserklaren Filtrats zur Analyse benutzt. Bei der Analyse selbst hielten wir uns genau an das von Wang beschriebene Vorgehen; nur wurde statt des Bromkresolgrün-Indikators, dessen Beschaffung uns Schwierigkeiten machte, 0,02%iges Methylrot in alkoholischer Lösung verwandt. Die im 24-Stunden-Harn ausgeschiedene Ca-Menge in mg war bei unserem Vorgehen

$$= \frac{\text{in der Analyse gefundener Ca-Wert (mg)}}{0{,}4} \times \text{24-Stunden-Harnmenge (ccm)}.$$

Zur Ermittlung der Aziditätsverhältnisse wurde ebenfalls im 24-Stunden-Harn sowohl die Wasserstoffionenkonzentration wie die Titrationsazidität untersucht. Die Bestimmung der Wasserstoffzahl geschah mit der Indikatorenmethode ohne Puffer nach dem Walpoleschen Prinzip im 50fach verdünnten Harn [7]. Die Titration erfolgte mit n/10 Natronlauge in je 50 ccm des 50fach verdünnten Harns, dem 1 ccm einer Thymolphthaleinlösung (0,1 g Thymolphthalein in 125 ccm 96%igem Alkohol und 125 ccm Wasser gelöst) als Indikator zugesetzt wurde. Das sonst gebräuchliche Phenolphthalein eignet sich für Kaninchenharne schlecht, weil der p_H dieser Harne häufig nahe an der Umschlagstelle von Phenolphthalein ($p_H = 8{,}3$) oder gar darüber liegt. Thymolphthalein dagegen schlägt etwa 1 Zehnerpotenz später um. (Farbumschlag bei $p_H = 9{,}3$ bis 10,5.)

Versuchsergebnisse.

I. Ca-Ausscheidung.

Die Ca-Ausscheidung im 24-Stunden-Harn des Kaninchens ist, wie uns die Versuche zeigten, recht großen Schwankungen unterworfen. Sie ist nicht nur von Tier zu Tier verschieden, sondern sie ist auch bei ein und demselben Tier von Tag zu Tag sehr unterschiedlich. Im Mittel schieden die untersuchten Tiere 15—43 mg Ca pro Tag in der Vorperiode aus.

Wenn der in der Einleitung auseinandergesetzte Gedankengang richtig war, konnte man zunächst vermuten, daß die Tiere an den Tagen, an welchen der Cardiazolkrampf gesetzt wurde, größere Ca-Mengen ausschieden als an den krampffreien Tagen.

Die Versuche ergaben jedoch übereinstimmend (s. Tab. 1), daß in den Krampftagen fast stets niedrigere Ca-Mengen zur Ausscheidung gelangten als in den krampffreien Tagen. Damit ist bewiesen, daß der akute Cardiazolkrampf, auch wenn er wochenlang immer wieder hervorgerufen wird, jedenfalls nicht unmittelbar zu einer erhöhten Ca-Ausscheidung im Harn Veranlassung gibt. Ja, es hat sogar den Anschein, als ob der Cardiazolkrampf zu einer Ca-Retention führe. Dieser Schluß ist aber deshalb nicht ohne weiteres zulässig, weil die mit Kochsalzlösung gespritzten Kontrolltiere (Nr. 226, 227 und 228) ebenfalls, wenn auch nicht ganz so häufig, an den Injektionstagen kleinere Ca-Mengen ausschieden als an den injektionsfreien Tagen.

---

[7] Siehe Michaelis, L., u. P. Rona: Praktikum der physikalischen Chemie. Berlin, Julius Springer, 1930.

Tabelle 1. Mittlere Ca-Ausscheidung im Harn pro Tag in mg Ca.

	Kaninchen (Cardiazoltier)								Kaninchen (Kontrolltier)					
	Nr. 221		Nr. 222		Nr. 223		Nr. 224		Nr. 226		Nr. 227		Nr. 228	
	Krampftage	krampffreie Tage	Krampftage	krampffreie Tage	Krampftage	krampffreie Tage	Krampftage	krampffreie Tage	Na Cl-Tage	Na Cl-freie Tage	Na Cl-Tage	Na Cl-freie Tage	Na Cl-Tage	Na Cl-freie Tage
1. Woche	32,30	43,92	—	—	2,25	9,83	5,81	7,76	18,53	25,97	35,99	22,83	11,74	6,74
2. „	3,95	17,16	—	—	64,68	9,01	4,59	4,87	2,55	22,33	—	—	11,70	8,20
3. „	19,35	14,29	—	—	0	10,24	7,98	9,75	28,66	16,78	—	—	11,85	6,96
4. „	10,56	16,29	—	—	3,23	18,39	0,80	9,17	11,34	28,68	—	—	4,17	8,91
5. „	6,99	17,30	17,31	14,93	—	—	7,31	7,09	13,18	29,93	—	—	10,78	7,15
6. „	4,12	5,12	6,98	14,51	—	—	11,33	10,23	16,81	16,61	10,57	12,84	5,93	6,91
7. „	5,05	5,84	13,54	23,10	—	—	6,88	5,42	16,97	15,81	17,85	16,13	11,07	14,18
8. „	10,60	11,15	11,25	21,80	—	—	9,41	13,40	17,36	21,70	20,70	24,10	9,54	13,65
9. „	3,45	13,60	0	31,98	—	—	—	—	8,51	19,23	33,16	8,53	5,27	6,22

Es fiel bei den Versuchen auf, daß die Tiere gelegentlich an den Cardiazolkrampftagen überhaupt keinen Harn ließen und daß auch am Schluß der 24-Stunden-Periode, in der der Krampf erzeugt wurde, durch Abpressen kein Harn zu gewinnen war. Man mußte also an die Möglichkeit denken, daß unter der Einwirkung des Cardiazols zwar eine Mobilisierung des Calciums stattfand, daß aber die Ausscheidung sich soweit verzögerte, daß sie erst in den krampffreien Tagen in Erscheinung trat. In diesem Falle war zu vermuten, daß die Gesamt-Ca-Ausscheidung der Cardiazoltiere, für einen passenden Zeitraum z. B. eine Wochenperiode abgegrenzt, sowohl diejenige der Kontrolltiere wie die eigene Ausscheidung in der Vorperiode übertreffen würde.

Bei allen Tieren, den Cardiazoltieren wie den Kontrolltieren, sank die Ca-Ausscheidung im Verlauf der 9wöchigen Versuchsperiode gegenüber der Vorperiode ab (s. Tab. 2). Während aber bei den Kontrolltieren die Ca-Ausscheidung pro Woche höchstens auf die Hälfte bis ein Drittel der Vorperiode zurückging, fielen die Werte bei den Cardiazoltieren auf ein Drittel bis ein Siebentel der Vorperiode. In beiden Versuchsreihen befanden sich je zwei Tiere mit verhältnismäßig hoher Ca-Ausscheidung und je ein Tier mit niedriger Ca-Ausscheidung. Es ist also auch ein Vergleich entsprechender Tiere der Cardiazolreihe mit solchen der Kontrollreihe möglich. Auch dabei ist ersichtlich, daß die Cardiazoltiere kleinere Calciummengen pro Woche ausschieden als

Tabelle 2. Gesamt-Ca-Ausscheidung im Harn pro Woche in mg Ca.

	Kaninchen (Cardiazoltier)				Kaninchen (Kontrolltier)		
	Nr. 221	Nr. 222	Nr. 223	Nr. 224	Nr. 226	Nr. 227	Nr. 228
Vorperiode	221,06	—	300,44	137,20	199,30	230,67	106,36
1. Woche	284,19	—	46,06	48,48	159,46	186,11	62,18
2. „	93,70	—	230,07	33,23	136,52	—	60,89
3. „	115,20	—	51,20	66,50	141,22	—	53,61
4. „	108,29	—	98,39	39,06	166,07	—	52,87
5. „	100,47	111,66	—	50,30	178,01	—	60,96
6. „	33,85	86,48	—	64,69	116,87	83,06	45,45
7. „	38,50	133,01	—	42,29	114,12	118,07	93,04
8. „	76,42	120,94	—	81,84	143,21	161,87	83,22
9. „	71,54	159,89	—	—	97,09	133,61	40,66

die Kontrolltiere, obgleich ihre Ca-Ausscheidung in der Vorperiode etwas höher lag als die der Kontrolltiere.

Die über einen Zeitraum von etwa 10 Wochen sich erstreckenden Untersuchungen ergaben also, daß chronisch fortgesetzte Cardiazolkrämpfe zu keiner Steigerung der Ca-Ausscheidung im Kaninchenharn führen; vielmehr blieb die Ca-Ausscheidung der Cardiazoltiere sogar gegenüber derjenigen von Kontrolltieren, die unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, zurück.

II. Aziditätsverhältnisse.

Im Verlauf der 9wöchigen Versuchsperiode gerieten die mit Cardiazol behandelten Tiere in einen Zustand, in dem der Wasserstoffexponent ihrer Harne dauernd niedriger war als der der Kontrolltiere. Ein Einfluß der Cardiazolkrämpfe in der Richtung hingegen, daß der Harn-p_H in der den Krampfanfall umschließenden 24-Stunden-Periode merklich saurer gewesen wäre, als am vorausgehenden und nachfolgenden Tage, konnte nicht festgestellt werden (s. Tab. 3).

Auch die Ausscheidung der durch Titration mit n/10 Natronlauge feststellbaren sauren Valenzen entsprach im großen ganzen dem Verhalten der p_H-Werte: An den Krampftagen selbst wurden keine größeren Mengen saurer Valenzen ausgeschieden als an den krampffreien Tagen. Dagegen übertraf die Gesamtausscheidung saurer Valenzen, für einen hinreichend großen Zeitraum abgegrenzt, bei den Cardiazoltieren die bei den Kontrolltieren ermittelte (s. Tab. 4).

Es ist die Frage, ob die durch chronisch fortgesetzte Cardiazolkrämpfe beim Kaninchen erzielbare Azidose, die offenbar sogar mit verminderter Ca-Ausscheidung im Harn einhergeht, in direkter Beziehung zur Cardiazolwirkung steht. Man könnte daran denken, daß durch die immer wiederholten Cardiazolkrämpfe die Tiere in ihrem Befinden und damit ihrer Freß- und Trinklust so gestört würden, daß sie weniger Nahrung zu sich nähmen und dadurch in einen gewissen Hungerzustand gerieten, bei dem Azidose

Tabelle 3. Mittlere p_H-Werte im Harn.

	Kaninchen (Cardiazoltier)						Kaninchen (Kontrolltier)					
	Nr. 221		Nr. 222		Nr. 224		Nr. 226		Nr. 227		Nr. 228	
	Krampftage	krampffreie Tage	Krampftage	krampffreie Tage	Krampftage	krampffreie Tage	NaCl-Tage	NaCl-freie Tage	NaCl-Tage	NaCl-freie Tage	NaCl-Tage	NaCl-freie Tage
5. Woche	—	—	7,1	7,3	—	7,2	8,1	8,0	8,0	8,0	7,3	7,2
6. „	—	7,3	7,2	7,4	7,3	7,2	7,8	7,7	8,1	8,2	7,1	7,1
7. „	6,9	7,1	6,8	6,7	6,8	6,7	7,7	7,5	7,6	7,3	7,3	7,1
8. „	6,9	6,8	6,8	6,7	6,7	6,6	6,9	7,2	8,4	7,9	8,0	7,3
9. „	7,0	6,8	—	6,8	—	—	7,6	7,2	8,3	8,3	7,6	7,8

und relativ verminderte Mineralausscheidung ohne weiteres verständlich wäre. Einer solchen Deutung widersprechen aber die Gewichtskurven der Cardiazoltiere, die vollkommen parallel denen der Kontrolltiere verliefen (s. Abb. 1).

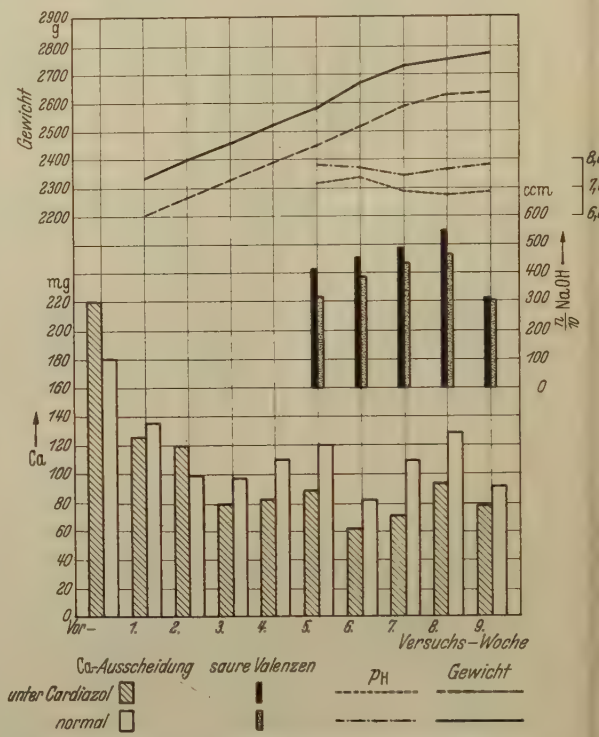


Abb. 1. Mittlere Ca-Ausscheidung (in mg Ca pro Woche), mittlere Ausscheidung saurer Valenzen (in ccm n/10 NaOH pro Woche), mittlere Harn-p_H-Werte, mittleres Gewicht der drei Cardiazoltiere bzw. der drei Kontrolltiere.

Azidosierung und trotz Azidosierung verminderte Ca-Ausscheidung im Harn müssen also doch wohl die direkte Folge der chronisch fortgesetzten Cardiazolkrämpfe sein. Eine Erklärung dieser Befunde, die die Richtigkeit der in der Einleitung auseinandergesetzten Gedankengänge sehr in Frage stellen, ist auf Grund des in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Materials nicht möglich. Um dem Wesen dieser Erscheinun-

Tabelle 4. Gesamtausscheidung saurer Valenzen im Harn pro Woche in ccm n/10 NaOH.

	Kaninchen (Cardiazoltier)			Kaninchen (Kontrolltier)		
	Nr. 221	Nr. 222	Nr. 224	Nr. 226	Nr. 227	Nr. 228
5. Woche	—	533,0	294,0	290,5	230,3	420,8
6. „	—	467,0	446,6	369,9	280,7	513,5
7. „	441,9	449,8	571,6	357,3	451,7	504,0
8. „	589,2	456,0	604,6	395,8	463,6	532,6
9. „	307,5	324,8	—	275,0	345,5	292,2

gen näherzukommen, wurde deshalb in einer weiteren demnächst folgenden Arbeit der Einfluß chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf das Säure-Basengleichgewicht im Blute der Tiere geprüft.

Zusammenfassung.

1. Es wurde an Kaninchen der Einfluß von 9 Wochen hindurch im Abstand von 2—3 Tagen fortgesetzten Cardiazolkrämpfen auf die Ca-Ausscheidung und die Azidität im Harn untersucht.

2. Die Tiere ertrugen im allgemeinen die erzeugten 19—24 Krampfanfälle, beurteilt nach der Gewichtskurve, ohne Störung ihres Allgemeinbefindens.

3. Eine Steigerung der Ca-Ausscheidung im Harn wurde weder an den Tagen, an welchen die Krämpfe erzeugt wurden, noch in dem gesamten Zeitraum, über den die Krämpfe sich erstreckten, beobachtet; vielmehr blieb die Ca-Ausscheidung der mit Cardiazol behandelten Tiere gegenüber derjenigen von Kontrolltieren, die unter den gleichen äußeren Bedingungen gehalten wurden, zurück.

4. Gemessen am p_H und der Titrationsazidität im Harn trat im Verlauf der Cardiazolbehandlung eine Azidosierung der Tiere ein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.

Die Wirkung chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf das Säure-Basengleichgewicht des Blutes beim Kaninchen.

Von

Walther Laubender und **Bodo Mertz.**

Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern).

(Eingegangen am 27. Mai 1941.)

Einleitung.

Seitdem in einigen älteren Arbeiten[1] die vermehrte Ausscheidung von Calcium im Harn von Fleisch- und Pflanzenfressern nach peroraler Säurezufuhr festgestellt worden war, ist der Gedanke, daß Azidosierung mit einem Ca-Verlust der Gewebe verknüpft sei, in der Literatur bei den verschiedensten Formen der Azidose immer wieder aufgetaucht.

Unter dem gleichen Gesichtspunkt war in einer vorhergehenden Arbeit[2] der Einfluß chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf die Ca-Ausscheidung und die Azidität im Kaninchenharn untersucht worden. Es hatte sich jedoch ergeben, daß trotz einer im Harn meßbaren Azidose keine Steigerung der Ca-Ausscheidung eintrat; vielmehr war die Ca-Ausscheidung der mit Cardiazol behandelten Tiere gegenüber derjenigen von Kontrolltieren vermindert gewesen.

Um eine Erklärung für diesen nicht ohne weiteres verständlichen Befund zu gewinnen, schien es notwendig, die Intensität und den zeitlichen Ablauf der durch die Cardiazolbehandlung erzeugten (endogenen) Azidose zu untersuchen und damit eine Vergleichsmöglichkeit mit der durch perorale Salzsäurezufuhr erzielbaren (exogenen) Azidose zu schaffen. Solche Untersuchungen wurden am zweckmäßigsten im Blute der Tiere vorgenommen, da erstens die Veränderung des Säurebasengleichgewichts im Blute derjenigen im Harn vorausgeht und zweitens das Blut nicht nur Durchgangsstation von im Gewebe entstehenden oder von außen her zugeführten und durch die Niere zur Ausscheidung gelangenden Säuren ist, sondern nach Erfahrungen mit fixen Säuren[3] unter Umständen auch unmittelbar einen Teilausschnitt des von der Säuerung betroffenen Gesamtorganismus geben kann.

---

[1] Granström, E.: Hoppe-Seylers Z. **58**, 195 (1908/09); Secchi, R.: Biochem. Z. **67**, 143 (1914). — [2] Laubender, W., u. F. Barth: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 5 (1941). — [3] Laubender, W.: Ebenda **165**, 5 (1932).

Methodik.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen, die verschieden lange Zeit hindurch (2—9 Wochen lang) im Abstand von 2—4 Tagen Cardiazol in krampfmachender Dosis intravenös (Ohrvene) injiziert bekamen. Die Anfangsdosis betrug stets 12 mg kg Cardiazol in 5%iger Lösung. Erwies sich diese Dosis als nicht mehr wirksam, was meist nach 3—4maliger Anwendung eintrat, so wurde eine 5—10% höhere Dosis injiziert, und falls diese wieder unwirksam wurde, die Dosis um denselben Betrag erhöht usw. In den über die längste Zeit hin durchgeführten Versuchen wurden Dosensteigerungen bis zu 50% des Ausgangswertes als Ausdruck einer langsam eintretenden Gewöhnung notwendig. Bei jeder Versuchsanordnung wurde eine hinreichende Anzahl von Kontrolltieren mituntersucht, die in gleichen zeitlichen Abständen wie die Cardiazoltiere entsprechende Mengen einer 0,9%igen NaCl-Lösung injiziert bekamen. Kontrolltiere und Cardiazoltiere wurden stets unter denselben äußeren Bedingungen, vor allem auch hinsichtlich des verabfolgten Futters (Hafer, Heu, Wasser) gehalten.

p_H, Plasmakohlensäuregehalt bei einer CO_2-Spannung von 40 mm Hg und Kohlensäuregehalt bei verschiedener CO_2-Spannung (Kohlensäurebindungskurve) wurden durchweg im arteriellen Blut bestimmt. An einem Tier wurden stets nur zwei Blutentnahmen vorgenommen, und zwar wurde für den Vorversuch das Blut aus der einen Art. femoralis, für den Hauptversuch aus der anderen entnommen. Wenngleich zum Studium des zeitlichen Ablaufs der Azidosewirkung mehrere Blutentnahmen wünschenswert gewesen wären, wurden weitere Blutentnahmen wegen der hierbei leicht eintretenden und schwer übersehbaren Auswirkungen („Aderlaßwirkung"), die in früheren Arbeiten beschrieben sind [4], vermieden. Notfalls wurden die Tiere innerhalb einer Versuchsserie gegabelt, so daß bei einem Teil der Tiere die Wirkung zu einem früheren, bei einem anderen Teil zu einem späteren Zeitpunkt ermittelt werden konnte.

Die p_H-Bestimmungen wurden mit Hilfe der Gaskette in U-Elektroden nach Michaelis [5] ausgeführt.

Der Plasmakohlensäuregehalt wurde auf folgende Weise bestimmt: das entnommene und mit Fluorid-Oxalat versetzte Blut wurde in der Apparatur von van Slyke [6] mit einer Luftkohlensäuremischung, die CO_2 in einer Spannung von 40 mm Hg enthielt, ins Gleichgewicht gebracht und unter Paraffinabschluß zentrifugiert; hierauf wurde 1 ccm Plasma im alten van Slykeschen Apparat [7] auf Gesamtkohlensäuregehalt analysiert (*volumetrische Methode*). Die Berechnung der gefundenen Werte wurde nach der Tabelle von van Slyke [7] für sodahaltige Lösungen durchgeführt; auf eine Abrechnung der physikalisch gelösten CO_2 wurde somit verzichtet.

Im Laufe der Arbeit hatte sich das Bedürfnis geltend gemacht, nicht nur über eine Verschiebung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes nach oben oder unten, die ja durch Bestimmung des Plasmakohlensäuregehaltes oder des Blut-p_H bei definierter CO_2-Spannung ermittelt werden kann, Aufschluß zu erhalten, sondern auch eine etwaige Änderung des Verlaufs der Kohlensäurebindungskurve in sich festzustellen. Zu diesem Zweck mußte der CO_2-Gehalt von Blut oder Plasma bei mehreren CO_2-Spannungen (z. B. einer solchen von 20, 40, 60 und 80 mm Hg) untersucht werden. Da die Durchführung dieser Analysen im Plasma verhältnismäßig große Blutmengen erfordert hätte (bei vier Spannungen etwa 16 ccm Blut), wurde die Ermittlung der Kohlensäurebindungskurve im Blut selbst,

---

[4] Fröhlich, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **151**, 323 (1930); Laubender, W.: Ebenda **165**, 5 (1932). — [5] Michaelis, L.: Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin, Julius Springer, 1914. — [6] van Slyke, D. D.: Abderhaldens Handb. Abt. IV, Teil 4, S. 1245 (1927). — [7] van Slyke, D. D.: J. biol. Chem. (Am.) **30**, 360 (1917).

und zwar mit der *manometrischen Methode* von van Slyke[8] vorgenommen. Ein Punkt der CO_2-Bindungskurve kann dabei unter Berücksichtigung der bei der Sättigung eintretenden Einbuße an Blut bequem mit etwa 2 ccm Blut bestimmt werden, da für die Analyse selbst nur 1 ccm Blut notwendig ist.

Veränderung von Blut-p_H, Plasmakohlensäuregehalt und Kohlensäurebindungskurve des Blutes durch Cardiazolkrämpfe.

1. Akute Versuche.

Blut-p_H und Plasmakohlensäuregehalt des Arterienblutes beim Kaninchen, geprüft bei einer CO_2-Spannung von 40 mm Hg, erfahren durch den akuten Cardiazolkrampf eine beträchtliche Senkung. Im Mittel fiel der Blut-p_H von 7,51 auf 7,16 und der Plasmakohlensäuregehalt von 41,7 auf 25,5 ccm CO_2 pro 100 ccm Plasma (s. Tab. 1).

Tabelle 1.

Kaninchen Nr.	Gewicht g	Vorversuch: p_H im strömenden Blut	Vorversuch: p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	Vorversuch: CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm	Hauptversuch: p_H im strömenden Blut	Hauptversuch: p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	Hauptversuch: CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm
					Unmittelbar nach dem Cardiazolkrampf		
234	2500	7,68	7,55	38,6	7,37	7,22	31,9
245	3200	7,59	7,50	44,2	7,23	7,13	23,3
246	3000	7,56	7,47	42,2	7,23	7,13	21,3
					22 Std. n. d. Cardiazolkrampf		
236	2500	7,52	7,43	38,5	7,63	7,54	45,1
					Unmittelbar nach NaCl-Injektion		
235	3000	7,50	7,38	41,5	7,44	7,35	40,6

Legt man der Beziehung von Wasserstoffionenkonzentration und Kohlensäuregehalt die bekannte Formel

$$[H^{\cdot}] = k \cdot \frac{[CO_2]}{[NaHCO_3]}$$

zugrunde, so ergibt sich, daß die Senkung des Plasmakohlensäuregehaltes nicht vollkommen der Senkung des p_H entspricht. Vielmehr übertraf häufig die Senkung des p_H diejenige des Kohlensäuregehaltes.

Die Versuche zeigten weiter, daß die Tiere offenbar nicht imstande waren, die durch den Cardiazolkrampf hervorgerufene starke Veränderung der aktuellen Wasserstoffionenkonzentration des Blutes auch nur teilweise durch die Atmung zu kompensieren. Die Senkung des p_H-Wertes im strömenden Blute (im Mittel von 7,61 auf 7,28), also bei der im Tier

[8] van Slyke, D. D.: Abderhaldens Handb. Abt. IV, Teil 4, S. 1245 (1927).

herrschenden alveolären CO_2-Spannung, ist fast vollkommen gleich derjenigen, die bei einer CO_2-Spannung von 40 mm Hg gefunden wurde.

Untersuchte man nicht unmittelbar nach dem durch die Cardiazolinjektion erzeugten Krampfanfall, sondern geraume Zeit später, so war die Einwirkung auf das Säurebasengleichgewicht des Blutes anscheinend vollkommen verschwunden. 22 Stunden nach der Cardiazolinjektion wurden sowohl die p_H-Werte wie der Plasmakohlensäuregehalt höher gefunden als im Vorversuch. Die Abweichung vom Ausgangswert nach der entgegengesetzten Seite dürfte wohl dem bereits erwähnten Aderlaßeffekt zuzurechnen sein.

Das rasche Verschwinden der durch den Cardiazolkrampf auslösbaren Azidose in unseren Versuchen (s. a. Tabelle 3) steht im Einklang mit den Versuchsergebnissen anderer Autoren im Tierexperiment und am Menschen[9], die bereits 20—30 Minuten nach dem Krampfanfall wieder normale Blut-p_H-Werte sahen, aber im bemerkenswerten Gegensatz zu der Salzsäurewirkung am Kaninchen. Nach eigenen früheren Versuchen[10] bewirkt an dieser Tierart 0,3 g/kg Salzsäure peroral eine Senkung des Blut-p_H und des Plasmakohlensäuregehaltes von ähnlichem Ausmaß, jedoch ganz anderer zeitlicher Dauer: diese Salzsäureazidose blieb 2—5 Tage lang bestehen.

Um festzustellen, ob der Cardiazolkrampf lediglich zu einer Verschiebung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes führt, oder ob auch ihr Ablauf eine Änderung erfährt, wurde in einer weiteren Versuchsreihe ermittelt, wie sich der Cardiazolkrampf auf die Abhängigkeit des Kohlensäuregehaltes des Blutes von der Kohlensäurespannung auswirkt.

Tabelle 2. Vorversuch 14 Tage vor dem Hauptversuch angestellt.

Kaninchen	Gewicht in g		Vorversuch					Hauptversuch				
			p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung von ....mm Hg				p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung von ....mm Hg			
Nr.	Anfang	Ende	40	20	40	60	80	40	20	40	60	80
								Unmittelbar n. d. Cardiazolkrampf				
860	2350	2600	7,49	35,4	44,6	51,2	55,2	7,06	9,2	15,3	19,0	22,4
852	2100	2300	7,30	24,6	31,2	38,0	44,2	7,19	13,2	19,8	24,3	28,9
								Unmittelbar nach NaCl-Injektion				
861	2100	2300	7,30	24,7	34,1	41,5	46,1	7,53	27,5	38,3	46,2	52,8
863	1850	2000	7,20	14,8	23,8	30,4	35,6	7,42	22,2	31,9	37,8	41,6

[9] Selbach, H.: Z. Neur. **160**, 334 (1937); Maurer, Wiles, Marberg, Skorodin u. Fisher: Amer. J. Psychiatry **94**, 1355 (1938); Low, Sonenthal, Blaurock, Kaplan u. Sherman: Arch. Neur. **39**, 717 (1938); Horwitt, Steinberg u. Liebert: Elgin Papers **3**, 61 (1939). — [10] Laubender, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 5 (1932).

Die Versuche ergaben (s. Tab. 2), daß der akute Cardiazolkrampf nicht nur eine Senkung der Kohlensäurebindungskurve, sondern auch eine beträchtliche Abflachung derselben bewirkt: während normalerweise bei Steigerung der CO_2-Spannung von 20 auf 80 mm Hg das Blut 20—25 ccm CO_2 (bezogen auf 100 ccm Blut) aufzunehmen vermag, sinkt dieser Wert nach dem Cardiazolkrampf auf 13—16 ccm CO_2. Die Abflachung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes hat zur Folge, daß jeder Zuwachs an CO_2-Spannung mit einer stärkeren Änderung der aktuellen Wasserstoffionenkonzentration des Blutes verknüpft ist als normalerweise.

2. Chronische Versuche.

a) 2-Wochen-Versuche.

Erzeugt man beim Kaninchen 2 Wochen hindurch im Abstand von etwa 3 Tagen Cardiazolkrämpfe und entnimmt unmittelbar nach dem letzten Krampfanfall Blut, so zeigt sowohl der Blut-p_H als auch der Plasmakohlensäuregehalt Senkungen, die grundsätzlich den beim einmaligen Cardiazolkrampf beobachteten entsprechen. Lediglich das Ausmaß der Senkungen scheint stärker zu sein als bei den Versuchen mit nur einer Injektion (s. Tab. 3 u. 1).

Tabelle 3.

Kaninchen Nr.	Gewicht in g	Anzahl der Injektionen	Vorversuch			Hauptversuch		
			p_H im strömenden Blut	p_H im Blut bei 40 mm CO_2 Spannung	CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2 Spannung ccm	p_H im strömenden Blut	p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm
						Unmittelbar nach dem letzten Cardiazolkrampf		
237	2500	4	7,53	7,40	41,1	6,92	6,83	16,6
238	2300	4	7,57	7,46	42,7	7,25	7,16	18,4
239	2900	4	7,44	7,35	35,1	6,77	6,68	14,6
						24 Std. nach dem letzten Cardiazolkrampf		
241	2800	5	7,45	7,36	38,1	7,63	7,53	50,8
242	3100	4	7,42	7,33	35,3	7,56	7,47	47,0
243	2600	4	7,51	7,39	38,0	7,64	7,51	49,7
						Unmittelbar nach der letzten NaCl-Injektion		
240	2600	4	7,54	7,42	41,6	7,38	7,28	29,6
						24 Std. nach der letzten NaCl-Injektion		
244	2800	4	7,50	7,41	41,4	7,60	7,51	48,6

Man könnte versucht sein zu denken, daß diese stärkere Azidosierung bereits die Folge des wiederholten Cardiazolkrampfes sei, und demgemäß schließen, daß die fortgesetzten Krämpfe schon zu einer weitgehenden Erschöpfung der Alkalivorräte der Tiere geführt hätten. Einer solchen

Deutung widersprechen jedoch die Versuche, in denen die Säurebasenverhältnisse des Blutes 24 Stunden nach dem letzten Cardiazolkrampf ermittelt wurden. Zu diesem Zeitpunkt wurde nicht nur jeder Ausdruck einer Azidose vermißt, sondern die p_H-Werte und der Plasmakohlensäuregehalt lagen höher als im Vorversuch. Die Tiere zeigten also ein ähnliches Verhalten wie 24 Stunden nach dem einmaligen Cardiazolkrampfanfall.

b) 4—5-Wochen-Versuche.

Die Ausdehnung der Versuche auf einen Zeitraum von 4—5 Wochen führte zu folgenden Ergebnissen (s. Tab. 4):

Tabelle 4.

Kaninchen Nr.	Gewicht g	Anzahl der Injektionen	Vorversuch: p_H im strömenden Blut	Vorversuch: p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	Vorversuch: CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm	Hauptversuch: p_H im strömenden Blut	Hauptversuch: p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	Hauptversuch: CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm
						Unmittelbar nach dem letzten Cardiazolkrampf		
308	3400	10	7,50	7,37	37,0	7,18	7,06	25,1
309	2900	10	7,62	7,52	43,8	7,27	7,18	27,1
						24 Std. nach dem letzten Cardiazolkrampf		
310	3700	10	7,53	7,43	45,3	7,46	7,34	39,5
313	3400	11	7,57	7,48	42,6	7,65	7,56	50,6
315	3350	10	7,57	7,47	41,1	7,56	7,47	40,2
						Unmittelbar nach der letzten Na Cl-Injektion		
311	2950	10	7,43	7,34	35,7	7,51	7,42	40,7
						24 Std. nach der letzten Na Cl-Injektion		
316	3150	10	7,54	7,44	41,1	7,62	7,53	46,1

Unmittelbar nach dem letzten Cardiazolkrampf wiesen Blut-p_H und Plasmakohlensäuregehalt Senkungen auf, deren Ausmaß fast genau dem nach einmaliger Cardiazolinjektion beobachteten entspricht.

Diese Versuche können als eine Bestätigung der im vorhergehenden Abschnitt gezogenen Schlußfolgerung betrachtet werden, daß jedenfalls nach 4—5 im Abstand von etwa 3 Tagen gesetzten Cardiazolkrämpfen keine Anzeichen einer Verminderung der Alkalireserve der Tiere vorhanden sind. In diesem Falle wäre nämlich nach 10 bis 11 krampfauslösenden Injektionen eine weitere Verstärkung des azidotischen Effektes, aber keine Übereinstimmung mit der Wirkung des einmaligen Cardiazolkrampfes zu erwarten gewesen.

Schwerer verständlich sind die Befunde, die 24 Stunden nach dem letzten Cardiazolkrampf erhoben wurden. Blut-p_H und Plasmakohlensäuregehalt waren zu diesem Zeitpunkt im Mittel vollkommen gleich mit den Ausgangswerten. Der sonst 24 Stunden nach dem letzten oder einmaligen

Cardiazolkrampf beobachtete Anstieg wurde also vermißt. Man könnte geneigt sein, diese Befunde folgendermaßen zu deuten: Der Anstieg von Blut-p_H und Plasmakohlensäure gegenüber dem Ausgangswert ist bedingt durch die erste Blutentnahme und als Aderlaßeffekt zu werten; während nach 14 Tagen diese Aderlaßwirkung noch vorhanden ist, ist sie 4—5 Wochen nach der vorausgegangenen Blutentnahme abgeklungen. Einer solchen Deutung steht aber der unter gleichen Bedingungen durchgeführte Kontrollversuch entgegen, bei dem Blut-p_H und Plasmakohlensäuregehalt anstiegen.

Das Ausbleiben der sonst 24 Stunden nach dem letzten Cardiazolkrampf beobachteten Verschiebung des Säurebasengleichgewichts im Blute nach der alkalischen Seite konnte also ein erster Hinweis dafür sein, daß die chronische Cardiazoldarreichung, wenn auch langsam, zu einer Verschiebung des Säurebasengleichgewichts des Organismus nach der azidotischen Seite führt, die von der akuten Azidose im Krampfanfall mehr oder minder unabhängig ist.

c) 9-Wochen-Versuche.

Die unmittelbar nach dem letzten Cardiazolkrampf vorgenommenen Messungen des Blut-p_H und des Plasmakohlensäuregehaltes bei den 2- und 5-Wochen-Versuchen hatten ergeben, daß die dabei zu beobachtenden Senkungen beider Größen weitgehend unabhängig sind von der Zahl der vorher erzeugten Krämpfe. Es wurde deshalb in der dritten Reihe der chronischen Versuche, die über einen Zeitraum von etwa 9 Wochen hin ausgedehnt wurde, darauf verzichtet, die Aziditätsverhältnisse unmittelbar nach dem letzten Cardiazolkrampf zu bestimmen und der Hauptwert auf das Verhalten 24 Stunden nach der letzten Injektion gelegt. Zu diesem Zeitpunkt war aller Wahrscheinlichkeit nach der immer wiederholte akute Insult abgeklungen und es bestand die Möglichkeit, eine etwa vorhandene chronische Einwirkung unüberdeckt messen zu können (s. Tab. 5).

Tabelle 5.

Kaninchen Nr.	Gewicht in g Anfang	Gewicht in g Ende	Anzahl der Injektionen	Vorversuch: p_H im strömenden Blut	Vorversuch: p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	Vorversuch: CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm	Hauptversuch: p_H im strömenden Blut	Hauptversuch: p_H im Blut bei 40 mm CO_2-Spannung	Hauptversuch: CO_2 in 100 ccm Plasma bei 40 mm CO_2-Spannung ccm
							24 Std. nach dem letzten Cardiazolkrampf		
221	2100	2800	19	7,44	7,36	28,7	7,38	7,31	26,9
222	2300	2550	21	7,39	7,31	30,6	7,32	7,23	26,4
224	2200	2570	24	7,47	7,38	30,1	7,29	7,19	24,0
							24 Std. nach der letzten NaCl-Injektion		
226	2300	2700	20	7,44	7,35	31,0	7,43	7,34	33,5
227	2200	2800	21	7,42	7,32	29,1	7,54	7,41	42,7
228	2500	2850	22	7,39	7,30	26,2	7,50	7,38	38,0

Bei allen drei Tieren, die etwa 9 Wochen lang im Abstand von 2—3 Tagen Cardiazol in krampfmachender Dosis erhalten hatten, waren 24 Stunden nach der Letztinjektion sowohl die Blut-p_H-Werte wie der Plasmakohlensäuregehalt gegenüber den Ausgangswerten, wenn auch teilweise nur wenig, abgesunken; die unter denselben äußeren Bedingungen gehaltenen drei Kontrolltiere dagegen zeigten Steigerungen. Die Ausdehnung der Versuche über einen Zeitraum von 9 Wochen führte demgemäß bei den Cardiazoltieren zu einer, wenn auch mäßig starken, absoluten Azidose, während in den 4—5 Wochen-Versuchen nur eine, im Gegensatz zu den Kontrolltieren kenntliche, also relative Azidose in Erscheinung getreten war.

Die Beziehung dieses chronisch sich entwickelnden Azidosezustandes zu der im Anfall selbst entstehenden Azidose ist damit nicht klargelegt. Um auch hierin Einsicht zu gewinnen, wurde in einer weiteren gleichfalls über etwa 9 Wochen sich erstreckenden Versuchsserie der Einfluß der chronisch fortgesetzten Cardiazoldarreichung auf den Verlauf der Kohlensäurebindungskurve des Blutes 24 Stunden nach der Letztinjektion untersucht (s. Tab. 6).

Tabelle 6.

Kaninchen	Gewicht in g		Anzahl der Injektionen	Vorversuch					Hauptversuch				
				p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung				p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung			
Nr.	Anfang	Ende		40	20	40	60	80	40	20	40	60	80
									24 Std. nach dem letzten Cardiazolkrampf				
248	2450	2600	25	7,32	21,1	30,4	36,4	40,9	7,32	19,0	29,6	36,3	40,2
249	2300	2800	25	7,46	29,8	42,1	51,8	54,9	7,36	26,4	37,0	44,6	49,9
250	2200	2650	25	7,30	23,9	33,5	39,0	42,9	7,29	21,9	34,2	41,3	46,3
									24 Std. nach der letzten NaCl-Injektion				
245	1800	2250	25	7,24	14,8	22,9	28,6	32,2	7,48	29,0	41,2	48,1	52,3
246	2200	3100	26	7,45	24,0	36,6	42,6	46,8	7,64	38,6	49,4	56,9	61,5

Die Versuche ergaben, daß trotz Senkung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes keine Abflachung derselben eintrat. Im Gegenteil — der Verlauf der Kohlensäurebindungskurve des Blutes war nach der chronischen Cardiazolbehandlung eher etwas steiler als vorher. Während nämlich bei Beginn der Versuche das Blut bei Erhöhung des Hg-Druckes von 20 auf 80 mm im Mittel 21 ccm CO_2 pro 100 ccm Blut aufnahm, stieg dieser Wert nach der Cardiazolbehandlung auf 23 ccm CO_2. Das deutet darauf hin, daß die im Verlauf der chronischen Cardiazoldarreichung entstehende Azidose völlig unabhängig sein könnte von der im akuten Anfall entstehenden Azidose, für die offenbar eine gleichzeitig mit der Senkung einhergehende Abflachung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes charakteristisch ist.

Man könnte einwenden, daß die „Aufrichtung" der Kohlensäurebindungskurve des Blutes im Laufe der chronischen Cardiazoldarreichung deshalb nichts bedeute, weil in den gleichzeitig durchgeführten Kontrollversuchen eine ähnliche Aufrichtung gefunden wurde. Es ist jedoch zu bedenken, daß in den Kontrollversuchen die „Aufrichtung" mit einer beträchtlichen Erhöhung der CO_2-Bindungskurve des Blutes verknüpft ist, und daß dabei die erstgenannte Veränderung wohl einfach die Folge des letztgenannten Vorganges ist.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Die vorliegende Arbeit hat zu zwei bemerkenswerten Ergebnissen geführt: Erstens zeigte sich, daß der experimentell erzeugte Cardiazolkrampf zu einer starken und rasch vorübergehenden Azidose im Blute führt, deren Auftreten durch zahlreiche Wiederholungen des Krampfes in bestimmten Zeitabständen nicht wesentlich geändert wird. Zweitens wurde gefunden, daß im Laufe der chronisch fortgesetzten Cardiazolkrampfbehandlung sich langsam ein dauernder Azidosezustand mäßigen Grades entwickelt. Es ist die Frage, wodurch diese beiden Azidosierungen hervorgerufen werden und in welcher Beziehung sie zueinander stehen.

Die im Cardiazolkrampf selbst entstehende Veränderung im Blute besitzt alle Kennzeichen eines durch starke Säuren in vivo hervorgerufenen Effektes (s. Abb. 1a und 1b).

Ganz ähnlich wie bei einer durch perorale Salzsäurezufuhr erzeugten Azidose erfährt die Kohlensäurebindungskurve des Blutes im Cardiazolkrampf sowohl eine Senkung wie eine Abflachung. Bei dem in Abb. 1 dargestellten Fall rief Cardiazol eine fast doppelt so starke Verschiebung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes nach unten hervor wie 0,3 g/kg Salzsäure, d. i. etwa $^1/_3$ der tödlichen Salzsäuredosis. Es ist also ziemlich sicher, daß im Cardiazolkrampf verhältnismäßig große Mengen einer starken Säure vom Gewebe ins Blut übertreten. Nach den von anderen Autoren[11] erhobenen Befunden wird man in erster Linie an Milchsäure denken. Diese Annahme ist geeignet, auch den verschiedenen zeitlichen Ablauf der durch Cardiazol erzeugten Azidose gegenüber der Salzsäureazidose zu erklären. Während die Salzsäureazidose nur in dem Maße rückgängig werden kann, als das gebildete Neutralsalz aus dem Blute, z. B. durch die Niere, ausgeschieden wird, besteht bei der Milchsäure die Möglichkeit der Elimination des Anions auf einem rascher funktionierenden, nämlich chemischem Wege, sei es, daß Oxydation dieser leicht verbrennlichen Säure, sei es, daß Re-

[11] Jahn, D.: Allg. Z. f. Psychiatrie u. ihre Grenzgebiete **107**, 114 (1938); Maurer, Wiles, Marberg, Skorodin u. Fisher, Amer. J. Psychiatry **94**, 1355 (1938); Himwich, Bowman, Fazekas u. Orenstein: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **37**, 359 (1937); Meduna, L., u. B. Rohny: Lancet **236**, 1139 (1939), I.; Katzenelbogen, Brody, Hayman u. Margolin: Amer. J. Psychiatry **95**, 1343 (1939).

synthese zu Kohlehydrat eintritt. Eine derartige Umwandlung des Anions im Intermediärstoffwechsel würde aber auch dazu führen, daß kein Alkaliverlust des Organismus einträte.

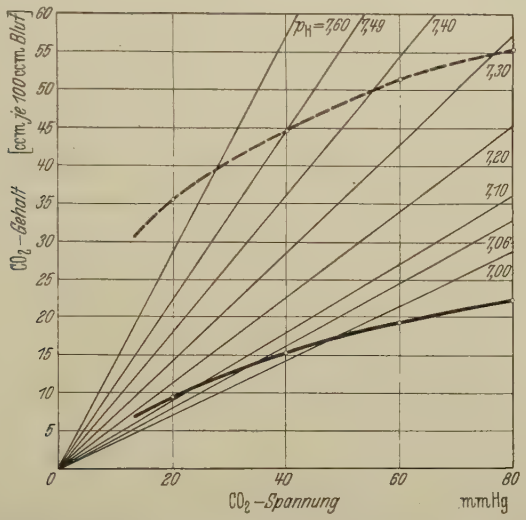


Abb. 1a. Verschiebung der CO_2-Bindungskurve des Blutes durch den Cardiazolkrampf. Kaninchen Nr. 860; — — — Vorversuch; ——— Hauptversuch. Der Vorversuch wurde 14 Tage vor dem Hauptversuch angestellt. Im Hauptversuch erfolgte die Blutentnahme unmittelbar nach dem erzeugten Cardiazolkrampf.

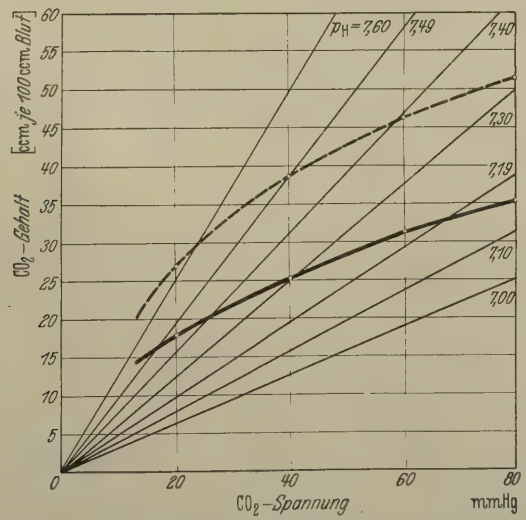


Abb. 1b. Verschiebung der CO_2-Bindungskurve des Blutes durch perorale HCl-Darreichung. Kaninchen Nr. 858; — — — Vorversuch; ——— Hauptversuch. Der Vorversuch wurde 14 Tage vor dem Hauptversuch angestellt. Im Hauptversuch erhielt das Tier 0,3 g/kg HCl (0,56%ige Lösung) mit der Schlundsonde, die Blutentnahme erfolgte 5 Std. nach der HCl-Eingießung.

Sehr viel schwerer als die im Cardiazolkrampf selbst entstehende Azidose ist die zweite Form der beobachteten Azidose zu verstehen. Zwei Möglichkeiten der Entstehungsweise sind hier ins Auge zu fassen. Es könnte sich erstens darum handeln, daß der Organismus die immer wieder im Krampfanfall erzeugte Azidose immer schlechter überwände, so daß Reste der im Anfall gebildeten Säure sich allmählich anhäufen und dann in Form von Alkalisalzen ausgeschieden würden, wodurch Alkaliverluste entständen; der chronisch sich entwickelnde Azidosezustand wäre dann als Kumulationserscheinung zu deuten. Gegen eine derartige Auffassung spricht aber einerseits die Tatsache, daß auch nach 4—5wöchiger Fortsetzung der Cardiazolkrämpfe keine Steigerung des azidotischen Effektes im Anfall selbst eintrat und andererseits die Beobachtung, daß der chronische Azidosezustand nicht mit einer Abflachung, sondern eher mit einer „Aufrichtung" der Kohlensäurebindungskurve des Tieres verknüpft war.

Man mußte deshalb zweitens daran denken, daß für den chronischen Azidosezustand eine andere Säure verantwortlich zu machen sei, als für die Azidose im Krampfanfall selbst. Die geringe Senkung der p_H-Werte und des Plasmakohlensäuregehaltes bei jener Form der Säuerung konnte zu der Annahme führen, daß es sich hierbei um eine wesentlich schwächer dissoziierende Säure handle als die Milchsäure. Es läßt sich nämlich zeigen, daß beim Einbringen äquivalenter Mengen einmal einer stärker und das andere Mal einer schwächer dissoziierenden Säure in ein einfaches Puffersystem die p_H-Verschiebung im letzten Falle kleiner ist als im ersten.

Um das näher zu erläutern, sei folgendes Beispiel betrachtet: Wie verschiebt sich die Wasserstoffionenkonzentration eines Kohlensäurebicarbonatpuffers, der als grobes Modell der Blutflüssigkeit betrachtet werden darf [12], wenn eine bestimmte Menge einer mehr oder minder stark dissoziierenden Säure in denselben eingebracht wird? Die Wasserstoffionenkonzentration (h) dieses Systems vor dem Säurezusatz ist von der CO_2-Konzentration (x), der Bicarbonatkonzentration (y) und der Dissoziationskonstante (k_1) abhängig gemäß der Formel:

$$h = k_1 \cdot \frac{x}{y}.$$

Bringt man in dieses System eine bestimmte Säuremenge (z), von der sich ein unbekannter Bruchteil (u) mit dem Bicarbonat umsetzt, so gelten für den Fall, daß die Kohlensäurespannung gleichgehalten wird, folgende zwei Gleichungen:

$$h = k_1 \cdot \frac{x}{y-u}; \qquad h = k_2 \cdot \frac{z-u}{u},$$

wobei k_2 die Dissoziationskonstante der eingebrachten Säure darstellt. Durch Elimination von u erhält man:

$$h = \frac{k_1 x + k_2 z - k_2 y}{2y} + \sqrt{\left(\frac{k_1 x + k_2 z - k_2 y}{2y}\right)^2 + \frac{k_1 k_2 x}{y}}.$$

Mit Hilfe dieser Gleichung kann man die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration, die ein dem Blute vergleichbares Kohlensäure-Bicarbonatpuffersystem

[12] Laubender, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 105 (1933).

($x = 0{,}01$; $y = 0{,}12$; $k_1 = 3 \cdot 10^{-7}$; $p_H = 7{,}60$) beim Einbringen von Säuren erfährt, berechnen. Angenommen, es würde einmal gerade soviel Milchsäure ($k_2 = 1{,}5 \cdot 10^{-4}$) zugefügt, daß bei vollkommenem Umsatz mit dem Bicarbonat die Hälfte davon aufgebraucht würde ($z = 0{,}06$), so erhielte man den p_H-Wert 7,32. Ein Zusatz der äquimolaren Menge Primärphosphat ($k_2 = 1{,}7 \cdot 10^{-7}$) würde den p_H auf 7,38 sinken lassen. Der Zusatz der äquivalenten Salzsäuremenge, bei der einfach die Hälfte des Bicarbonats als Kochsalz aus dem Puffersystem ausscheiden würde, würde eine p_H-Senkung auf 7,30 bewirken.

Diese Durchrechnung ergibt also, daß zwar die schwache Phosphorsäure (in Form des Primärphosphats) eine geringere Senkung der Wasserstoffionenkonzentration in dem angenommenen CO_2-Bicarbonatgemisch hervorruft als die wesentlich stärkere Milchsäure, daß aber die quantitativen Unterschiede recht gering sind.

Der Zusatz äquivalenter Mengen von Salzsäure und Primärphosphat zu Blut in vitro schließlich ergab überhaupt keine greifbaren Meßunterschiede in der vermuteten Richtung. Vielmehr lagen die p_H-Werte des mit Primärphosphat versetzten Blutes noch etwas tiefer als die nach Salzsäurezusatz ermittelten, so daß auch die Kohlensäurebindungskurve des Blutes durch den Phosphatzusatz etwas mehr erniedrigt war als durch den Salzsäurezusatz (s. Tab. 7).

Tabelle 7.

Von einer größeren Menge Kaninchenblut, dem Fluorid-Oxalat zugesetzt war, wurden aliquote Teile mit einer NaCl- bzw. HCl- bzw. NaH_2PO_4-Lösung in der Weise versetzt, daß zu 10 Teilen Blut 1 Teil Lösung von der in der Tabelle angegebenen Konzentration zugegeben wurde.

Zusatz von	p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung von ..... mm Hg			
	40	20	40	60	80
0,9% NaCl	7,61	32,2	44,5	50,5	54,8
0,1 n HCl.....	7,42	26,8	38,9	44,8	48,9
0,2 n HCl	7,22	20,5	32,2	38,1	42,5
0,1 m NaH_2PO_4	7,38	25,4	37,7	43,4	47,8
0,2 m NaH_2PO_4	7,19	17,9	29,8	36,1	40,2

Es wäre also unrichtig, annehmen zu wollen, daß die chronische Azidosierung in unseren Versuchen im Gegensatz zur akuten durch Einströmen einer sehr viel schwächer dissoziierenden Säure ins Blut bedingt sei. Trotzdem hat uns die Berücksichtigung dieser theoretisch stützbaren Annahme im Laufe der Arbeit dazu geführt, die Wirkung äquivalenter Mengen von Salzsäure und Primärphosphat auf das Blut auch in vivo zu untersuchen, wobei ein merkwürdiges Ergebnis zutage trat (s. Tab. 8).

Während die Salzsäureeingießung in den Magen der Tiere in Übereinstimmung mit früheren Befunden[13] zu einer Senkung der p_H-Werte und

[13] Laubender, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 5 (1932).

Tabelle 8.

Wirkung von HCl bzw. NaH_2PO_4 auf das Säurebasengleichgewicht des Blutes bei Eingießung von 0,154 molaren Lösungen mit der Schlundsonde; die benutzte Konzentration entspricht der einer 0,9%igen NaCl-Lösung. Der Vorversuch wurde 14 Tage vor dem Hauptversuch angestellt.

Kaninchen	Gewicht in g		Eingegossene Lösungsmenge (0,154 m) in ccm/kg Tier	Vorversuch					Hauptversuch				
				p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung von .... mm Hg				p_H im Blut	ccm CO_2 in 100 ccm Blut bei einer CO_2-Spannung von .... mm Hg			
Nr.	Anfang	Ende		40	20	40	60	80	40	20	40	60	80
									5 Std. nach der HCl-Eingießung				
857	2000	2000	35,6	7,46	26,1	35,3	41,7	45,7	7,28	19,3	26,8	33,0	36,6
858	1900	2100	53,4	7,49	26,2	38,2	46,0	50,7	7,19	17,7	24,7	31,0	34,7
									5 Std. nach der NaH_2PO_4-Eingießung				
859	1900	2250	53,4	7,45	22,6	32,4	38,3	42,2	7,45	21,4	33,5	39,6	43,6

der Kohlensäurebindungskurve des Blutes führte, bewirkte die perorale Zufuhr von Primärphosphat keine Änderung des p_H-Wertes bei 40 mm Hg-Druck und nur eine geringe Verschiebung der Kohlensäurebindungskurve. Primärphosphat verhält sich also in vivo und in vitro verschieden, Salzsäure dagegen gleichsinnig.

Die Änderung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes nach der Primärphosphateingießung hat nun aber Ähnlichkeit mit der im Laufe der chronischen Azidosierung unter Cardiazol beobachteten. In beiden Fällen trat eine „Aufrichtung" der Kohlensäurebindungskurve ein (s. Abb. 2a und 2b).

Die Annahme, daß der chronisch sich entwickelnde Azidosezustand durch eine andere Säure bedingt sei als durch die im Krampfanfall selbst dominierende erhält damit eine neue Stütze. Allerdings kann dann für die Wirkung nicht der schwache Säurecharakter der postulierten Säure allein ausschlaggebend sein, vielmehr müßte eine andere Eigenschaft die Wirkung mitbestimmen, wobei vor allem das Verhalten an der Membran entscheidend sein dürfte. Das Ausbleiben der typischen Azidose bei Zufuhr von Primärphosphat in vivo könnte auf folgende Weise zustande kommen: Das Primärphosphat an sich wird überhaupt nicht resorbiert; vielmehr holt dieses Salz gewissermaßen aus dem Gewebe über das Blut soviel Alkali, bis ein Phosphatgemisch von geeigneter Wasserstoffionenkonzentration entsteht, das dann langsam resorbiert wird; tritt bei der Ausscheidung durch die Niere wieder eine Verschiebung im Sinne einer Mehrausscheidung von Primärphosphat ein, so braucht der Alkaliverlust des Gesamtorganismus nur ein sehr geringer zu sein. Der durch die chronisch fortgesetzte Cardiazoldarreichung erzeugte Zustand könnte sich folgendermaßen entwickeln: Die postulierte Säure (Phosphorsäure?) befindet sich intrazellulär; sie

vermag nicht ohne weiteres die Membranschranke zu durchdringen und holt sich soviel Alkali aus dem Blute, bis ein Puffergemisch von geeigneter

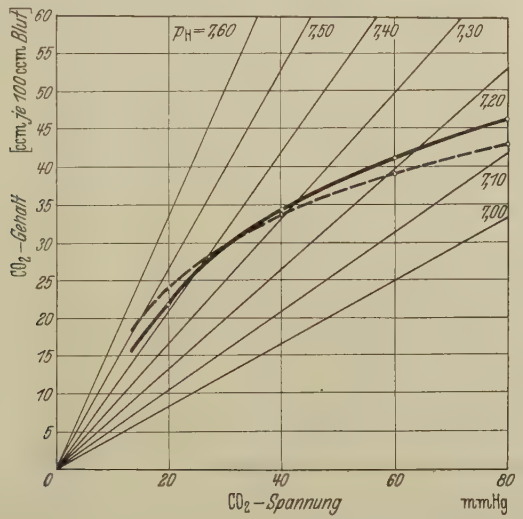


Abb. 2a. Verschiebung der CO_2-Bindungskurve des Blutes durch Cardiazolkrämpfe, die über 9 Wochen hin im Abstand von 2 bis 3 Tagen fortgesetzt wurden. Kaninchen Nr. 250: — — — Vorversuch; ——— Hauptversuch. Im Hauptversuch erfolgte die Blutentnahme 24 Std. nach der letzten Cardiazolinjektion.

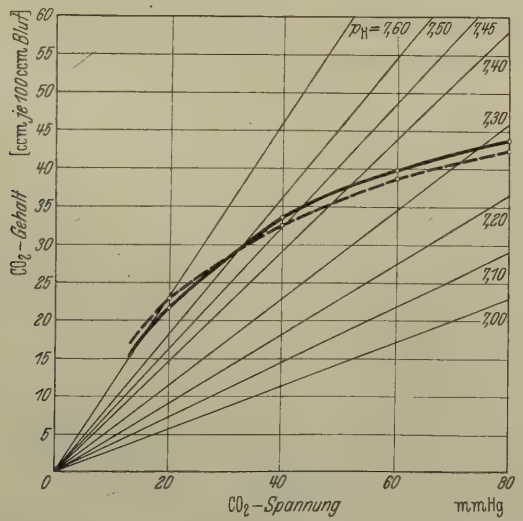


Abb. 2b. Verschiebung der CO_2-Bindungskurve des Blutes durch perorale NaH_2PO_4-Darreichung Kaninchen Nr. 859; — — Vorversuch; ——— Hauptversuch. Der Vorversuch wurde 14 Tage vor dem Hauptversuch angestellt. Im Hauptversuch erhielt das Tier die 0,3 g/kg HCl äquimolare NaH_2PO_4-Menge (0,154 molare Lösung) mit der Schlundsonde, die Blutentnahme erfolgte 5 Std. nach der NaH_2PO_4-Eingießung.

H-Ionenkonzentration entsteht, das dann langsam in die Blutbahn übertritt; durch Verschiebung des Verhältnisses zwischen saurem Anteil und basischem Anteil an der Nierenschranke im Sinne einer Mehrausscheidung von sauren Valenzen könnte der Organismus den Alkaliverlust sehr drosseln; ja er könnte ihn überkompensieren, wenn die basischen Valenzen, die normalerweise mit der Nahrung aufgenommen werden und durch die Niere wieder abfließen, zur Neutralisation der gebildeten Säuren vorzugsweise ins Gewebe geleitet würden.

Unter diesen Gesichtspunkten würden sich die beiden Befunde, die Laubender und Barth[14] bei der Wirkung chronisch fortgesetzter Cardiazolkrämpfe auf die Azidität und die Ca-Ausscheidung im Harn erheben konnten, nämlich die Verschiebung von p_H und Titrationsazidität nach der sauren Seite sowie die verminderte Ca-Ausscheidung, die ja Teilerscheinung einer im ganzen verminderten Ausscheidung von Alkalien sein konnte, zwanglos erklären.

Zusammenfassung.

1. Es wurde an Kaninchen der Einfluß von einmaligen und von im Abstand von 2—3 Tagen über einen Zeitraum bis zu 9 Wochen fortgesetzten Cardiazolkrämpfen auf den Blut-p_H, den Plasmakohlensäuregehalt und die Kohlensäurebindungskurve des Blutes untersucht.

2. Im Cardiazolkrampf entsteht eine starke Senkung des Blut-p_H, des Plasmakohlensäuregehaltes und der Kohlensäurebindungskurve des Blutes; die Kohlensäurebindungskurve erfährt dabei eine Abflachung, ähnlich wie bei der Wirkung starker Mineralsäuren (HCl) in vivo. Im Gegensatz zu dem Verhalten starker Mineralsäuren ist diese Wirkung aber rasch reversibel. Das Auftreten der Blutazidose im Cardiazolkrampf selbst wird durch zahlreiche Wiederholungen des Krampfes in den genannten Zeitabständen nicht wesentlich geändert.

3. Im Laufe der chronisch fortgesetzten Cardiazolkrampfbehandlung entwickelt sich zweitens, allerdings sehr langsam, ein dauernder Azidosezustand mäßigen Grades. Die Kohlensäurebindungskurve des Blutes erfährt dabei keine Abflachung, sondern eher eine Aufrichtung.

4. Es wird die Möglichkeit diskutiert, daß das Auftreten der geschilderten beiden Azidoseformen auf der Entstehung von mindestens zwei verschiedenen Säuren beruhen kann. Es werden ferner Vorstellungen entwickelt, mit deren Hilfe man das Ausbleiben von Alkaliverlusten, ja sogar die Retention von Alkalien im Organismus trotz des Eintretens der beiden Azidosierungen verständlich machen kann.

[14] Laubender, W., u. F. Barth: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 5 (1941).

Aus dem Pharmakologischen Institut Kiel.

Über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

IX. Die stoffliche Blockade spezifischer Grenzflächen als Ursache der Tachyphylaxie der Sympathicomimetica. Beeinflussung der Adrenalinoxydase.

Von

Gerhard Orzechowski.

(Eingegangen am 10. Juni 1941.)

In den vorangegangenen Mitteilungen wurde die Auffassung vertreten, daß gewisse eigenartige Wirkungen der Sympathicomimetica durch einfache chemische und physicochemische Vorstellungen leichter verständlich werden. Die als Tachyphylaxie bekannte Wirksamkeitsabschwächung der gebräuchlichen Sympathicomimetica bei wiederholter Zufuhr konnte ganz allgemein als ein Phänomen erkannt werden, das nicht stoffspezifisch ist. Man kann durch Ephedrinvorbehandlung die erste Veritolinjektion* abschwächen und umgekehrt. Für alle bisher erprobten Sympathicomimetica ergab sich in dieser Hinsicht eine wechselseitige Vertretbarkeit. Es wurde nunmehr die Annahme zugrunde gelegt, daß die Ursache dieser Erscheinung in einer Belegung spezifischer Grenzflächen mit Sympathicomimeticum-Molekülen zu erblicken ist. Die Haftfähigkeit des in die spezifischen Grenzflächen adsorbierten Stoffes und die im Gleichgewicht zu den adsorbierten Molekülen stehende Konzentration in der flüssigen Phase ist dann ausschlaggebend für den tachyphylaktischen Effekt. Dann mußte bei konsequenter Zufuhr auch die Abschwächung der Adrenalinwirkung mit Stoffen geringer Haftfähigkeit erreicht werden. Geringe Haftfähigkeit in den spezifischen Grundflächen ist aber eine Voraussetzung für die Verwendung solcher Stoffe in der menschlichen Kreislauftherapie. Am Beispiel der in die Kreislauftherapie eingeführten Ephedrinderivate konnte diese Auffassung bestätigt werden[1]. Andererseits läßt sich die bekannte sympathicolytische Wirkung des Ergotamins als ein Spezialfall der Tachyphylaxie durch einen Stoff mit hervorragender Haftfähigkeit auffassen. In einer Reihe von Untersuchungen[2] konnten schließlich ephedrinartige Wirkungen des Ergotamins vorgewiesen werden.

Für die Stützung der vorgetragenen Auffassung sind nur Beweismomente mehr qualitativen Charakters erbracht worden. Eine quantitative Unterbauung muß den Nachweis bringen, daß das Ausmaß der

---

* Warenzeichen [zuerst von Eichler in Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937) beschrieben].

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237, 245 (1940). — [2] Ebenda S. 253.

tachyphylaktischen Reaktion tatsächlich der Haftfähigkeit parallel läuft. Dabei wird der zu erwartende Unterschied bei den Sympathicomimeticis der Kreislauftherapie sicher nicht sehr groß sein. Wie schon öfter betont, ist die logische Folgerung unserer Gedankengänge, daß bei steigender Haftfähigkeit und bei steigender Wirksamkeit die Stoffe immer adrenalinähnlicher werden müssen. Dabei macht die dann sicher ebenfalls steigende Unstabilität die Stoffe für unsere Zwecke in gleichem Maße ungeeigneter. Bei steigender Haftfähigkeit und gleichbleibender Wirksamkeit dürften die Stoffe immer ergotaminähnlicher werden. Damit werden sie aber im gleichen Maße für die Therapie weniger interessant und standen uns nicht zur Verfügung, da wir weder Mittel noch Möglichkeit zu eigener Herstellung hatten. Man wird sich also von vornherein damit abfinden müssen, daß die gebräuchlichen ephedrinähnlichen Stoffe eine Sammelklasse mit geringen oder geringsten Unterschieden abgeben werden. Die hier fehlenden Ausschläge kann vielleicht die Heranziehung anderer Stoffklassen bringen, deren Zugehörigkeit zu dem Problem in vorangegangenen Mitteilungen [3] gezeigt worden ist. Es sind auf der einen Seite die Sekalealkaloide, auf der anderen Seite Lokalanaesthetica wie Novokain und manche Aminosäuren.

Zur Durchführung des quantiativen Vergleiches suchten wir nach einem Modell. Dieses sollte möglichst exakte Ergebnisse bringen, um den Vergleich mit den viel weniger exakten In-vivo-Resultaten zu erleichtern. Ein solches Modell konnte die von Blaschko [4] studierte Adrenalinoxydase sein. Dieses Ferment oxydiert das Adrenalin sehr spezifisch. Zu unseren eigenen Vorstellungen paßte die Angabe von Blaschko sehr gut, daß Ephedrin die Adrenalinoxydase hemmt. Die Diskussion des Hemmungsmechanismus[5] führte uns schließlich dazu, die Adrenalinoxydase als exakt arbeitendes Modell zur quantitativen Prüfung der Voraussetzungen unserer Hypothese zu wählen. Eine Salzbildung als Erklärung des Hemmungsmechanismus etwa im Sinne der Schwermetallhemmung der Urease, des Papains oder der β-h-Fructosidase war völlig unwahrscheinlich. Ebensowenig konnte mit einer irreversiblen Zerstörung etwa im Sinne der Methylierung der SH-Gruppen von Papain durch Diazomethan oder der Zerstörung durch Oxydationsmittel, wie selenige Säure, Ozon, Jod, $KMnO_4$, Sauerstoff + Schwermetall, gerechnet werden. Einmal ist dazu die Reaktionsfähigkeit des Ephedrins zu gering und zu wenig spezifisch, zum anderen verändert die Anwesenheit von CN die Wirkung der Adrenalinoxydase nicht. Es blieb also nur die Erklärungsmöglichkeit, daß eine Blockierung der wirksamen Gruppen die Umsetzung des Enzyms mit dem Substrat verhindert, also etwa vergleichbar der Hemmungswirkung oberflächenaktiver Narkotica bzw. von Zerfall- oder Umwandlungsprodukten

[3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 260, 469 (1940). — [4] Biochem. J. **31**, 2187 (1937). — [5] Vgl. Bersin, Th.: Kurzes Lehrbuch der Enzymologie, Leipzig 1939.

oder wie im Falle der durch Mandelsäure gehemmten Dehydrierung der Bernsteinsäure mittels Succinodehydrase. Es ist somit anzunehmen, daß die Hemmung der Adrenalinoxydase durch Ephedrin als Verdrängung des an der Enzymoberfläche adsorbierten Adrenalins durch den Hemmungskörper bzw. als Blockierung der diskreten aktiven Gruppen der Enzymoberfläche durch das in wesentlich höherer Konzentration anwesende Ephedrin und als dadurch bedingte Fernhaltung des Adrenalins zu erklären ist. Wahrscheinlich ist die adsorptive Bindung des Katalysators an den falschen Reaktionsteilnehmer zu fest. Der sonst rasche Rückzerfall des gebildeten Katalysator-Substrat-Komplexes bleibt aus und die Katalysengeschwindigkeit wird praktisch Null. Berücksichtigt man, daß wir heute keinen Anhaltspunkt dafür haben, daß die aktiven Gruppen der kristallisierten Fermente etwas anderes sind als die übrigen Bausteine der Proteine, nämlich Aminosäuren (Wagner-Jauregg[6]), dann könnte man beinahe geneigt sein, den vorliegenden Fall mit dem alten Willstätterschen Bilde vom Schlüssel und vom Schloß zu beschreiben. Da unsere Vorstellung von der chemischen Natur der Tachyphylaxie die Grenzflächenaktivität herausstellt, erschien die Wahl der Adrenalinoxydase als Modell besonders angezeigt.

Die Adrenalinoxydase[7] wurde nach der Vorschrift von Blaschko, Richter und Schloßmann[8] aus Meerschweinchenleber hergestellt. Das Gewebe wurde mit Seesand unter Zusatz von einem Teil m/15 Phosphatpuffer vom p_H 7,3 verrieben. Dann wurde zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde auf zwei Teile mit Pufferlösung aufgefüllt und direkt verwendet. Die Versuche wurden im Warburg-Apparat durchgeführt. In jedes Kegelgefäß kamen 1,9 ccm Enzymlösung, dazu 0,1 ccm m/50 KCN zur Hemmung der Histaminase und Cytochromoxydase und 0,2 ccm der m/2,5 Lösung des Aminhydrochlorids. In den Ansatz wurden 0,2 ccm einer 1%igen Lösung von Adrenalinhydrochlorid gebracht. Zur CO_2-Adsorption wurden in den dafür bestimmten Einsatz 0,3 ccm einer Lösung aus 10 ccm n/1 KCN + 1 ccm n/1 KOH gebracht[9]. Nach Einstellung der Temperatur wurde die Adrenalinlösung in den Haupttrog übergeführt, und nunmehr der O_2-Verbrauch 2 Stunden lang verfolgt.

Diesen In-vitro-Versuchen sollen Experimente an dekapitierten Katzen[10] gegenübergestellt werden. Die Versuchstechnik war dabei die gleiche, wie sie früher von uns beschrieben worden ist[11]. An den gewonnenen Rußkurven wurde ausgewertet, welche Mengen des verwendeten Sympathicomimeticums notwendig waren, um die Adrenalinempfindlichkeit des Präparates auf einen bestimmten Teil des Ausgangswertes herabzusetzen. Diese Werte lassen keine so genauen Meßergebnisse erwarten

[6] Chemie und Physiologie des Eiweißes, Dresden und Leipzig 1938, S. 45. — [7] Die Versuche wurden von E. Rosenkranz ausgeführt. — [8] a. a. O., S. 2188. — [9] Krebs: Biochem. J. **29**, 1633 (1935). — [10] Diese Versuche wurden von Dr. Günther Malorny ausgeführt. — [11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237 (1940).

wie der In-vitro-Versuch. Die Auswertung erfolgte dabei stets nach Abschluß des Versuches. Während des Versuches waren wir auf Schätzungen des Hemmungseffektes angewiesen. Deshalb sind auch die Zeiten, die für die Erreichung des Zieles nötig waren, in die Beurteilung einbezogen worden.

Zu diesen Untersuchungen wurden folgende Stoffe ausgewählt:

(−)-1-Phenyl-2-methylamino-1-ol-hydrochlorid = l-Ephedrin,
(rac)-1-Phenyl-2-aminopropan-sulfat = Benzedrin,
(+)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-hydrochlorid = Pervitin *,
(rac)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminopropan-sulfat = Veritol *,
p-Aminobenzoyldiäthylaminoäthanol-hydrochlorid = „Novocain" *.
4-Butylaminobenzoyl-dimethylaminoäthanol = Pantocain *,
Ergotaminmethansulfonat,
Ergometrintartrat = „Basergin" *.

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle 1 wiedergegeben. Sie entsprechen im großen und ganzen den Erwartungen. Alle für die Untersuchung der Beeinflussung der enzymatischen Wirkung der Adrenalinoxydase angewandten Substanzen ergaben eine eindeutige Hemmung. Bei den ephedrinähnlichen Stoffen sind die beobachteten Unterschiede in der Beeinflussung des Fermentgeschehens der Annahme entsprechend zu gering, um Schlüsse daraus ziehen zu können, d. h. sie sind größenordnungsmäßig gleich. Dieser Feststellung entsprechen auch die In-vivo-Versuche an dekapitierten Katzen. Wie früher bereits auseinandergesetzt wurde, konnte schon aus methodischen Gründen die Genauigkeit der Ablesung niemals dem In-vitro-Versuch angenähert werden.

Die zur Verbesserung der Vergleichsmöglichkeit mitverwerteten Zeiten, die zur Erreichung des Hemmungseffektes nötig waren, zeigen deutlich, daß wir bei In-vivo-Versuchen noch von anderen Faktoren abhängig sind. Die Streuung des Tiermaterials läßt sich nicht ausschalten. Sie wird in unseren Versuchen sogar beträchtlich sein, da wir die Katzen fast immer in frisch angeliefertem Zustand in den Versuch nehmen mußten, ohne über ihre Herkunft orientiert zu sein. Die zweiten drei Stäbe der Tabelle sind ein Beweis für die Wichtigkeit dieses Zusammenhangs. Bei allen Versuchen bis auf einen zeigt sich ein klarer Zusammenhang zwischen Dosis, Hemmungseffekt und der benötigten Zeit. Praktisch ist diese insofern ausschlaggebend gewesen, als sie durch die verschiedene Empfindlichkeit der Tiere bedingt war. Je vorsichtiger die Beladung der Tiere mit den untersuchten Stoffen durchgeführt werden mußte, desto länger wurden die Zeiten bis zur Erreichung des Hemmungseffektes, desto größer aber auch die Dosen, die zur Aufrechterhaltung einer bestimmten Konzentration in den spezifischen Grenzflächen notwendig waren. Daß es sich

* Warenzeichen. Für die freundliche Überlassung der zur Durchführung der Versuche notwendigen Stoffmengen danken wir allen Herstellerfirmen verbindlich.

Tabelle 1.

Substanz	Versuche in vitro		Versuche in vivo						Wirkungsverhältnis zu Adrenalin am Blutdruck
	Konzentration	Hemmung der Adrenalinoxydase in % *)	Hemmung der Adrenalinwirkung an dekapitierten Katzen			Sensibilisierung der Andrenalinwirkung an dekapitierten Katzen			
			in %	mit mg	nach Min.	in %	mit mg	nach Min.	
Benzedrin	m/50	47	70	12	440	300	2,75	390	1 : 60
			50	57	490	300	1,0	270	1 : 100
Ephedrin	m/50	46	50	19	420	300	2,75	390	1 : 100
			50	183	960	240	0,75	200	1 : 100
Pervitin	m/50	49	20	20	75	300	0,6	190	1 : 500
			50	2,3	180	130	0,3	75	1 : 250
			75	11	330				
Veritol	m/50	57	70	23	315	100	0,25	35	1 : 80
			70	146	720	400	2	180	1 : 50
			70	232	705	650	19	420	1 : 60
Novocain	m/50	47	75	169	630	100	5,6	245	1 : 30000
Pantocain	m/50	80	50	4,9	255	100	0,9	83	
	m/500	23	75	0,9	400	200	0,2	220	
Ergometrin	m/650	20	67	3,3	140	100	0,8	55	1 : 200
			90	8,4	630				
Ergotamin	m/2800	22	50	0,2	270	100	0,1	180	1 : 50
			50	0,4	330	25	0,3	240	1 : 33
			70	0,5	620				

*) Mittelwerte aus 10 Versuchen.

dabei nicht um lineare Verhältnisse handelt, spricht für einen adsorptiven Vorgang. Der 1. Pervitinversuch fällt heraus, ohne daß sich Gründe dafür angeben lassen. Wenn man diese Einschränkungen in Betracht zieht, dann stimmen die Ergebnisse der In-vivo-Versuche mit denen der In-vitro-Versuche in befriedigender Weise überein.

Die Lokalanaesthetica haben nicht den in sie gesetzten Erwartungen entsprochen. Das Novocain schließt sich im Tierexperiment und dem Fermentversuch den Ephedrinderivaten an, während das Pantocain um eine Größenordnung wirksamer ist, allerdings unter Erfüllung der hypothetischen Vorstellung. Es entspricht in seiner Wirksamkeit dem Ergometrin, während Ergotamin erwartungsgemäß die extreme Stellung einnimmt. Interessanterweise entsprechen auch die Wirksamkeitsabstände der beiden im Fermentversuch untersuchten Pantocainkonzentrationen den Wirkungsabständen im Tierversuch nicht. Wir sehen darin einen erneuten Hinweis auf das Vorliegen eines Adsorptionsgleichgewichtes.

Die Aminosäuren Tyrosin, Cystin und Alanin hatten im Tierversuch auch nach sehr großen Dosen keine meßbare Adrenalinabschwächung erbracht. Von diesen Stoffen sind im Fermentversuch Tyrosin und Alanin untersucht worden. Sie ergaben eine Steigerung des fermentativen O_2-Verbrauches, bedingt durch ihren eigenen Abbau. Sie eignen sich daher entgegen den eingangs geäußerten Erwartungen nicht zum Vergleich in der in dieser Arbeit eingeschlagenen Richtung.

Die Versuche, über die im vorangegangenen berichtet worden ist, haben damit ergeben, daß sich die Adrenalinoxydase als Modell für die von uns entwickelten Vorstellungen über den Mechanismus der Tachyphylaxie der Sympathicomimetica eignet. Es liegt nun noch näher anzunehmen, daß der Tachyphylaxie eine substantielle Blockade spezifischer Grenzflächen durch sympathicomimetische Stoffe zugrunde liegt.

Gaddum und Kwiatkowski[12] sind gleichzeitig mit uns zu sehr ähnlichen Auffassungen gekommen. An sich sind solche Zusammenhänge schon früher geäußert worden (Curtis), allerdings ohne überzeugende Beweismomente. Bei Gaddum und Kwiatkowski ist aber die Grundidee doch etwas anders. Sie sagen: „The diminishing effect on the blood pressure of successive doses of ephedrine (tachyphylaxie) may perhaps be due to blockage of the motor receptors by ephedrine, which thus excludes the chemical transmitter through whose preservation from the enzyme the earlier doses of ephedrine produce their effect", und belegen diese Auffassung mit der Adrenalinsensibilisierung durch Ephedrin. Wie aus den Stäben 7, 8 und 9 der Tabelle 1 hervorgeht, ist die Adrenalinsensibilisierung eine offenbar ebenso allgemein verbreitete Eigenschaft einer bestimmten molekularen Konstellation wie der Adrenalinantagonismus. Die in der Tabelle verzeichneten Werte stammen aus Versuchen, bei denen

[12] J. Physiol. **94**, 87 (1938).

Tabelle 2.

Substanz	Andrenalinsensibilisierung am Blutdruck an dekapierten Katzen			Wirkungsverhältnis zum Adrenalin am Blutdruck der dekapitierten Katzen
	in %	mit mg	nach Min.	
Tyramin	3000	0,4	201	1 : 100
Tyrosin	300	1,0	120	$\sim$ 1 : 1000
Alanin	300	76	320	θ

ausdrücklich auf die Adrenalinsensibilisierung geachtet wurde. Es soll aber nicht behauptet werden, daß nicht noch feinere Unterschiede herauszuarbeiten wären. Zunächst aber besagt die Aufstellung, daß die Adrenalinsensibilisierung bei Stoffen, deren Kreislaufwirksamkeit nach Stab 10 außerordentlich verschieden ist, größenordnungsmäßig gleich groß ist. Allerdings ist allen von ihnen gemeinsam, daß sie die Adrenalinoxydase hemmen, wenn auch verschieden stark. Tabelle 2 zeigt jedoch, daß auch Stoffe, die die Adrenalinoxydase nicht hemmen, weil sie selbst durch das Ferment zerstört werden, ebenfalls die Blutgefäße für die Adrenalinwirkung sensibilisieren. Auch hier zeigt sich, daß keine Beziehungen zwischen Adrenalinsensibilisierung und der Wirksamkeit der Stoffe bestehen. Diese Gegenüberstellungen zeigen, daß bei unserer heutigen Kenntnis von den Dingen die Auffassung von Gaddum noch nicht die letzte Lösung sein dürfte.

Zusammenfassung.

1. Die Adrenalinoxydase wird durch eine ganze Anzahl von sympathicomimetischen Stoffen gehemmt.

2. Zwischen Hemmung der Adrenalinoxydase und Beeinträchtigung der Adrenalinwirksamkeit im Tierversuch bestehen Parallelen, die sich an allen untersuchten Beispielen zwanglos ziehen ließen.

3. Auch diese Versuche sind ein neuer Hinweis dafür, daß die Tachyphylaxie der Sympathicomimetica auf eine stoffliche Blockade spezifischer Grenzflächen zurückgeführt werden kann.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.

Einfluß der wasserlöslichen Vitamine auf die Wirkung der Muskelgifte am Frosch.

Von

Prof. Dr. **Ernst Frey**, Direktor des Instituts.

(Eingegangen am 12. Juni 1914.)

A. Einleitung.

Durch chemische Untersuchungen sind wir über die Vorgänge bei der Muskeltätigkeit, insbesondere über den Kohlehydratabbau gut unterrichtet; auch über den Angriffspunkt der Muskelgifte haben chemische Untersuchungen Aufschluß gebracht. In der Hauptsache finden die Abbauvorgänge anaerob statt und erst die Resynthese wird durch Oxydationen ermöglicht. Am Ende der Restitution ist der Muskel wieder in ursprünglicher Weise zu neuer Arbeit bereit, und es ergibt sich nur ein Defizit an Glykogen.

Wir wissen nun, daß eine Anzahl von Muskelgiften an bestimmter Stelle den Abbau oder auch den Aufbau stören können und dadurch Veränderungen der Muskeltätigkeit veranlassen. Auf der anderen Seite ist bekannt, daß die wasserlöslichen Vitamine durch ihre Eigenschaft als Bausteine der Fermente in den Stoffwechsel eingreifen, indem sie als Oxydoreduktionssysteme den Kohlehydratstoffwechsel beeinflussen.

Es lag daher nahe, den Einfluß der wasserlöslichen Vitamine auf die Tätigkeit des vergifteten Muskels zu untersuchen und zu prüfen, ob sich dabei Gegenwirkungen der Vitamine gegen die Muskelvergiftung ergeben oder ob durch Zugabe der Vitamine weitere Schädigungen zu beobachten sind.

B. Chemische Vorgänge bei der Muskeltätigkeit.

1. Allgemeines.

Die Muskelzuckung wird als eine Änderung des kolloidalen Zustandes der Eiweißkörper des Muskels aufgefaßt, wobei die Zickzackform der Eiweißkette aus dem gestreckten Zustand in den kontrahierten übergeht [Deuticke (1)]. Solche Veränderungen der Muskelproteine hat Deuticke (2) nach Arbeit gefunden; die Löslichkeit der Eiweißstoffe nimmt ab, und gleichzeitig die Synthesefähigkeit. Das gleiche findet unter Fluoridwirkung, bei der Wärmestarre, der Chloroformstarre, der Totenstarre und

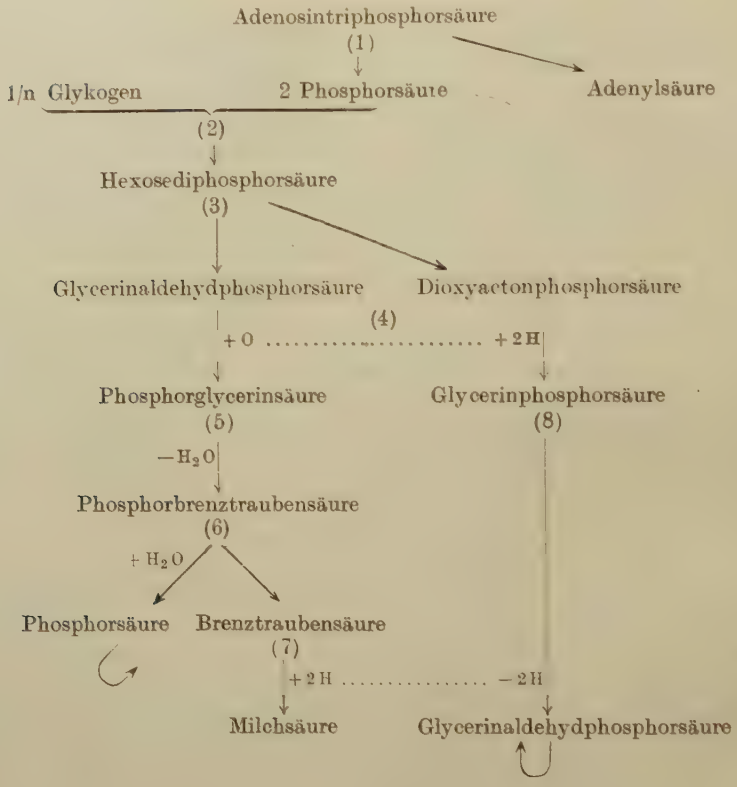
beim Wiederauftauen der Muskulatur statt [Deuticke (3) und Embden (4)].

Diese Veränderung kommt unter dem Einfluß chemischer Substanzen zustande; als Kontraktionssubstanz galt früher die Milchsäure. Sie entsteht freilich nur langsam und verschwindet noch langsamer [zusammenfassende Darstellung bei Embden (5)]. Und als Lundsgaard (6) bei der Monojodessigsäure-Vergiftung nachwies, daß zwar noch Kontraktionen zu sehen sind, aber keine Bildung von Milchsäure, ließ man die ursächliche Bedeutung der Milchsäure für den Kontraktionsprozeß fallen. Es scheinen zunächst durch den Zerfall der Kreatinphosphorsäure oder der Adenosintriphosphorsäure die weiteren Umsetzungen im Muskel ausgelöst zu werden, deren spätere Anteile zum Teil schon der Erholung dienen. Besonders schön hat v. Muralt (7) durch Verfolgen der optischen Erscheinungen diesen zuerst erfolgenden Zersetzungsvorgang der Kreatinphosphorsäure darstellen können. [Siehe auch v. Baeyer (8).] Diese zuerst vor sich gehenden Aufspaltungen scheinen den Kontraktionsvorgang zu veranlassen; gleichzeitig stellen sie den Anfang des Abbaus der Kohlehydrate dar.

2. Kohlehydratabbau.

Aus Kreatinphosphorsäure und Adenosintriphosphorsäure entstehen also Phosphorsäuren, welche sich mit der Hexose aus dem Glykogen zu Mono- und Diphosphorsäure verbinden. Diese Hexosediphosphorsäure zerfällt in Glycerinaldehydphosphorsäure und Dioxyacetonphosphorsäure. Nun kommt es durch Oxydation der ersteren und Reduktion der letzteren zum Auftreten von Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure. Dies ist die erste Oxydoreduktion, die beim Zerfall der Kohlehydrate im Muskel vor sich geht und auf welche sowohl Muskelgifte (Monojodessigsäure) wie auch Fermente einen Einfluß ausüben können. Von den beiden jetzt vorhandenen Körpern entsteht aus der Phosphoglycerinsäure durch Abgabe von Wasser Phosphobrenztraubensäure und diese zerfällt durch Wiederaufnahme von Wasser in Phosphorsäure und Brenztraubensäure, wobei Adenosintriphosphorsäure als Co-Ferment wirkt [Meyerhof und Kiessling (9), Kollath (10)]. Die Brenztraubensäure wird durch Aufnahme von 2 H, welche das andere Bruchstück, die Glycerinphosphorsäure liefert, die selbst dadurch zur Glycerinaldehydphosphorsäure wird, zur Milchsäure. Dies ist die zweite Oxydoreduktion, die ebenfalls ein Angriffspunkt für Gifte oder Fermente sein könnte. Die Milchsäure wird dann zum Teil verbrannt und liefert den Hauptteil der Energie für die Synthesen, welche sie selbst wie auch die anderen Spaltprodukte erfährt [Darstellung nach Lehnhartz (11); ferner Zusammenfassung von Embden, Deuticke und Kraft (12)]. (Methylglyoxal spielt beim Kohlehydratabbau im normalen Muskel keine Rolle.) Die Oxydoreduktionen sollen nach Kollath (10) über die Sulfhydrilkörper gehen.

Schema des Kohlehydratabbaus nach Embden.



3. Erscheinungen am Muskel.

Bei der Einwirkung von Muskelgiften sehen wir auf rhythmischen Reiz hin — häufig nach anfänglicher Steigerung der Zuckungshöhen — eine dauernde Abnahme der Kontraktionshöhen. Wenn dabei alle 5 Minuten mit einer Serie von maximalen Öffnungsschlägen im Abstand von 1 Sekunde gereizt wurde, so kam es bei einigen Substanzen auch zu einer vorschnellen Ermüdung, indem in einer Serie die Zuckungen erheblich kleiner wurden (z. B. bei Coffein), während bei anderen Giften die Zuckungen einer Serie gleich hoch waren und erst allmählich von 5 zu 5 Minuten abfielen. Die zweite Erscheinung bestand bei diesen Vergiftungen in der Ausbildung einer Kontraktur, indem allmählich die Fußpunkte der Zuckungen immer höher rückten, manchmal weit über die anfängliche Zuckung hinaus.

Die wasserlöslichen Vitamine haben keinen Einfluß auf die Muskeltätigkeit (s. unten).

C. Die wasserlöslichen Vitamine.

Die wasserlöslichen Vitamine werden im Organismus durch Verbindung mit Phosphorsäure und Zucker zu den Co-Fermenten, die zusammen mit einem Eiweißrest, dem Apo-Ferment, das definitive Ferment bilden. Sie greifen in den Stoffwechsel als Redoxsysteme ein und spielen bei der Hefegärung als Cozymase oder Cocarboxylase eine Rolle. Dieser Aufbau der Vitamine zu den Co-Fermenten geschieht nach Verzár (13) durch das Eingreifen der Nebennierenrinde, deren Produkt die Phosphorylierung der Vitamine besorgt. Da nun verschiedene Muskelgifte an dem Abbau oder Aufbau der Kohlehydrate hemmend eingreifen, so könnte ein Einfluß der Vitamine bei den Vergiftungen des Muskels zu erwarten sein.

1. Aneurin.

Das Vitamin B_1 enthält Stickstoff und Schwefel, seine Pyrophosphorsäureverbindung ist nach Lohmann und Schuster (14) die Cocarboxylase; bei der Hefegärung vollzieht sich die Decarboxylierung der Brenztraubensäure zu Acetaldehyd unter seiner Wirkung. In welcher Weise das Aneurin in den Kohlehydratstoffwechsel des Muskels eingreift, ist nicht durchsichtig. Aber es liegt nahe anzunehmen, daß auch hier die Tätigkeit an derselben Stelle des Kohlehydratabbaus entfaltet wird. Denn im Blute Beriberi-kranker Tauben findet sich Brenztraubensäure in vermehrter Menge, und zwar nach Johnson (15) in vierfacher Menge. [Ferner: Peters und Sinclair (16), Peters und Thompson (17), Shindo (18).] Nach Hylin, v. Euler und Högberg (19) steigt die Menge Brenztraubensäure im Blute von 10 γ/ccm auf das Drei- bis Vierfache bei Aneurinmangel und sinkt bei gesunden Versuchspersonen und bei Ratten im Blute stark — um etwa 300 % — nach Aneuringaben. Auch im Gehirn avitaminotischer Tauben häuft sich Brenztraubensäure an und erst Zugabe von B_1 steigert die Atmung und gleichzeitig den respiratorischen Quotienten, der vorher abnorm niedrig war [Peters und Sinclair (16), Peters und Thompson (17), Peters und Thompson (20)]; Passmore, Peters und Sinclair (21) benutzten die atmungssteigernde Wirkung an atmendem Gehirn Beriberi-kranker Tauben, um den Gehalt an B_1 festzustellen (Katatorulintest), nachdem in der gleichen Weise schon Rohr (22) sowie Hess und Takahaski (23) und Hess (24) die Wirkung verschiedener Gewebe auf die Atmung des Gehirns und die Schutzwirkung gegen Beriberi parallel gefunden hatten; dabei war Niere am stärksten wirksam, dann Gehirn und Muskel in gleicher Weise.

Die Beriberi-Erkrankung faßt Hess (24, 25) als „eine Verarmung der Gewebe an den die Atmung vermittelnden Zellfermenten auf. Verminderung des Atmungsvermögens ist bei Avitaminose an verschiedenen Organgeweben, insbesondere auch am Gehirn in vitro nachzuweisen. Das Krankheitsbild der Vogelberiberi kann in allen Einzelheiten durch Blau-

säurehemmung der Gewebsatmung reproduziert werden. Die Verarmung des Körpers an Atmungsfermenten im Reisregime hat — theoretischer Folgerung entsprechend — eine Steigerung der Cyankaliempfindlichkeit der Tiere im Gefolge."

Das Leber- und Muskelglykogen steigt nach Lajos (26) nach Aneuringaben an, während der Nüchternblutzucker sinkt, was ebenfalls Tislowitz (27) feststellte [s. auch Lewinson (28)]. Nach Zambotti (29) und Zambotti und Ferrante (30) geht unter dem Einfluß von B_1 die giftige Ketoform der Brenztraubensäure in die ungiftige Enolform über, was für die spätere Decarboxylierung notwendig sei.

(Danach könnte B_1 eine Gegenwirkung bei der Blausäurevergiftung des Muskels aufweisen oder sich auch sonst als Atmungsferment betätigen, z. B. die Milchsäureverbrennung bei der Coffeinvergiftung wieder in Gang bringen.)

2. Lactoflavin.

Auch das Lactoflavin oder B_2 ist ein Bestandteil von Fermenten; es wird durch Veresterung mit Phosphorsäure, zum Teil auch mit Adenin zu einem Co-Ferment, das an Eiweiß gebunden das gelbe Oxydationsferment darstellt. Es ist ein Redoxsystem, die reduzierte und oxydierte Form können ineinander übergehen, und auf diese Weise sowohl H als auch O aufnehmen. Diese Oxydoreduktionen sind irgendwie mit der Phosphorylierung der Zucker oder ihrer Abbauprodukte verknüpft, und es kann eine Hemmung der Phosphorylierungen (Adrenalectomie, Monojodessigsäurevergiftung) durch Lactoflavinphosphorsäure wieder behoben werden. Aber das Lactoflavin ist erst nach der Kuppelung mit Phosphorsäure wirksam. Diese Phosphorylierung wird durch Phlorrhizin und Monojodessigsäure z. B. im Darmextrakt verhindert, aber auch durch KCN [Verzár (13), S. 102]. So wird die Wachstumshemmung von Ratten durch Jodessigsäure nicht durch Lactoflavin, sondern nur durch Lactoflavinphosphorsäure überwunden [Verzár (13), S. 222]. Da nach Verzár die Nebennierenrinde die Phosphorylierungen bewirkt, so ist auch bei der Adrenalectomie und der Wachstumsstörung nach ihr die Lactoflavinphosphorsäure, nicht aber Lactoflavin selbst in günstigem Sinne wirksam [Verzár (13), S. 103].

(Es wäre also zu erwarten, daß bei der Monojedessigsäurevergiftung Lactoflavinphosphorsäure als Antagonist wirksam wäre, nicht aber Lactoflavin selbst, oder doch erst nach Zugabe von Nebennierenrindensubstanz.)

3. Nikotinsäureamid.

Nikotinsäureamid oder Antipellagrawirkstoff ist ein Bestandteil des wasserstoffübertragenden Ferments, das sich aus einer Codehydrase und einem Eiweißkörper, der Apodehydrase, zusammensetzt. Dabei sind mit dem Nikotinsäureamid noch 1 Molekül Adenin, 2 Moleküle Pentose und 2, manchmal auch 3 Moleküle Phosphorsäure verknüpft. Es scheinen diese

Dehydrasen I und II bei allen Dehydrierungen im Körper eine Rolle zu spielen, bei der Sauerstoffatmung, bei der Gärung oder der Milchsäurebildung. Nach Göbel (31) senkt Nikotinsäureamid den Blutzucker, den Kreatinspiegel und verstärkt die Wirkung des Insulins und Adrenalins auf den Blutzucker.

(Es könnte also Nikotinsäureamid in vielfacher Weise in den Muskelstoffwechsel eingreifen, vermutlich an den beiden Stellen der Oxydoreduktionen.)

4. Ascorbinsäure.

Ascorbinsäure stellt ein Redoxsystem dar, welches überall im Körper verbreitet, wohl vielfach in die Reaktionen eingreift. Es wirkt sowohl die reduzierte wie auch die oxydierte Form. Der genaue Zusammenhang mit dem Muskelstoffwechsel ist nicht bekannt.

D. Versuchsanordnung.

Um die Wirkung der Vitamine auf die gestörte Muskeltätigkeit zu beobachten, wurde zur Ermöglichung eines Vergleiches immer ein Paar Sartorien, die ihre Kurven übereinander schrieben und in demselben Stromkreise hintereinander lagen, mit den Muskelgiften behandelt, aber der Badflüssigkeit des einen das Vitamin zugesetzt. Gereizt wurde durch maximale Öffnungsschläge unter Abblenden der Schießungsschläge, und zwar mit dem Metronom im Abstand von 1 Sekunde, jedesmal 6—8 Schläge hintereinander. Dann wurden die Muskeln wieder in die Bäder versenkt und 5 Minuten gewartet; darauf erfolgte wieder eine Serie von Reizen in Luft. Gemessen wurde darauf die Höhe der Zuckungen und in Prozent der Höhe der Anfangszuckung ausgedrückt, um einen Vergleich auch verschiedener Versuche zu ermöglichen und Durchschnittszahlen zu gewinnen. Trat bei einer Vergiftung eine Kontraktur, d. h. ein Höherrücken des Nullpunktes auf, so wurde auch diese Kontraktur gemessen und ebenfalls in Prozenten der Höhe der Anfangszuckung in Ringerscher Flüssigkeit ausgedrückt; dabei wurden bei einzelnen Giften starke Kontrakturen beobachtet, die weit über die Höhe der Anfangszuckung hinausgingen. Trat während einer Reizserie bei einzelnen Giften eine Ermüdung in der Weise ein, daß schon in der Serie selbst die Zuckungen kleiner wurden, so wurde dies als Ermüdung in der Serie bezeichnet und in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung (dieser Serie) ausgedrückt.

Im allgemeinen traten die Vergiftungserscheinungen bei Unwirksamkeit eines Vitamins an beiden Muskeln recht gleichmäßig auf, hinsichtlich der Beeinflussung der Höhe der Zuckung oder der Ausbildung der Kontraktur. Um aber eine zeitliche Verschiedenheit bei den Muskeln — es kann vorkommen, daß bei der 5-Minuten-Prüfung der eine Muskel in der Vergiftung dem anderen voraus ist — auszuschalten, wurde außerdem die Summe der Zuckungshöhen und die Summe der Kontrakturen gebildet; diese Summen können natürlich nur in jedem Versuch miteinander verglichen werden,

da ja bei starker Vergiftung die endgültige Lähmung zeitiger eintrat als bei schwacher Vergiftung und infolgedessen weniger 5-Minutenwerte zur Bildung der Summe zur Verfügung standen. Daher kann immer nur eine solche Summe der Zuckungshöhen oder der Kontrakturen des mit Vitamin behandelten und mit einem Muskelgift geschädigten Muskels mit der Summe der Zuckungen oder Kontrakturen des anderen Muskels, der nur dem Muskelgift ohne Vitamin ausgesetzt war, verglichen werden. Um aber einen Vergleich verschiedener Versuche zu ermöglichen und Durchschnittswerte zu erhalten, wurde jedesmal die Summe der Zuckungen oder Kontrakturen, die der ohne Vitamin belassenen Muskel lieferte, gleich 100 gesetzt, und die Summe der Zuckungen oder Kontrakturen des Muskels, der Gift und Vitamin bekommen hatte, in Prozenten der Kontrollzuckungen oder Kontrollkontrakturen ausgedrückt. Auf diese Weise erhält man eine leicht übersehbare Durchschnittszahl; steht also bei der Zuckung die Zahl 60, so heißt das, daß die Zugabe des Vitamins die Zuckungen (zusammengezählt) auf 60% der Kontrollzuckungen erniedrigte.

Dabei stellte sich heraus, daß in sehr vielen Fällen diese Zahlen merkwürdig genau übereinstimmen, z. B. 98 oder 104%, daß also ein Einfluß des Vitamins mit Sicherheit fehlte. Dieser Schluß ist durchaus bindend.

Schwieriger ist festzustellen, in welcher Schwankungsbreite Abweichungen als beweisend für den Einfluß des Vitamins zu gelten haben. Sicherlich kommen Streuungen von 10% vor, die bei derartigen biologischen Objekten in die Fehlergrenzen fallen, aber auch solche von 20% möchte ich noch nicht als beweisend ansehen.

Präparate: Angewandt wurde als B_1 Betaxin oder Betabion 1 ccm = 2 mg Vitamin B_1, Lactoflavin als Lactoflavin Bayer 2,2 ccm = 1 mg Lactoflavin, die Lactoflavinphosphorsäure Bayer 2 ccm = 1 mg Lactoflavin, als Vitamin C Cantan oder Cebion 2 ccm = 0,1 g l-Ascorbinsäure und die Nebennierenrindenpräparate Cortidyn und Pancortex. Den Firmen, welche mir diese Präparate freundlichst zur Verfügung stellten, sage ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

Unterstützt wurde ich durch die Mitarbeit von Frl. Bonstedt, von Herrn Kahle, Schünemann, Frl. Rössner, Herrn Franke, Bode und Wieners.

Vorversuche: Einfluß der Vitamine auf die Muskelzuckung.

Tabelle 1.

Einfluß der wasserlöslichen Vitamine auf die normale Muskeltätigkeit.

Beide Muskeln in Ringerscher Flüssigkeit; der eine mit Zusatz des Vitamins. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Mit Aneurin: Betaxin 0,1 ccm/50 ccm und 0,5 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	115	104	90	76	76	75	73	mit Betaxin,
100	106	101	96	92	93	88	88	nur Ringer.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen:
93% mit Betaxin, 100% nur Ringer.

Mit Lactoflavin: Lactoflavin 0,1 ccm/50 ccm und 0,5 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	97	100	81	75	64	61	61 mit Lactoflavin,
100	103	92	88	72	73	64	64 nur Ringer.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 97% mit Lactoflavin, 100% nur Ringer.

Mit Nikotinsäureamid: Nikotinsäureamid 0,1% 1 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	103	86	65	61	47	35 mit Nikotinsäureamid,
100	99	86	82	72	66	55 nur Ringer.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 88% mit Nikotinsäureamid, 100% nur Ringer.

Mit Ascorbinsäure: Cantan 0,2 ccm/50 ccm und 1,0 ccm/50 ccm und 2,0 ccm pro 50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	98	98	101	98	95	91	85	79	66 mit Cantan,
100	102	98	102	95	94	93	85	93	92 nur Ringer.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 96% mit Cantan, 100% nur Ringer.

Ergebnis: Die wasserlöslichen Vitamine haben selbst keinen Einfluß auf die Muskelzuckung.

E. Der Einfluß der Vitamine auf die Muskelvergiftung.

1. Natriumfluorid.

Nachdem Tappeiner 1889 (32) die Wirkung des Fluorids auf den Muskel beschrieben hat, sind häufig Untersuchungen darüber angestellt worden. Er sagt: „In die Lösung geworfen, beginnt er sofort lebhaft zu zucken und zieht sich wellenförmig zusammen. Die Zuckungen hören bald auf, der Muskel zieht sich noch stärker zusammen und wird unerregbar."

Von besonderem Interesse sind die Untersuchungen der Wirkung des Fluorids auf die intermediären Stoffwechselvorgänge. Nach Embden, Abraham und Lange (33) wird Milchsäure nach Fluoridvergiftung nicht mehr gebildet, aber Lactacidogen wird aufgebaut. Auch das Auftreten von freier Phosphorsäure wird durch Fluorid herabgesetzt, die Synthese der Phosphorsäureester also begünstigt [Embden und Hentschel (34). Unter Fluorid baut die Muskulatur aus Glykogen und Phosphorsäure Hexosediphosphorsäure auf [Embden und Zimmermann (35)]. Dabei zeigt das Fluorion eine Ausnahmestellung: Embden und Lehnhartz (36) untersuchten die Phosphorsäureabspaltung in verschiedenen Salzlösungen; sie fanden sie am größten in Jodid und Chlorid, in Sulfat ganz gering und in Citrat aufgehoben; in Fluoridlösungen dagegen verschwand die Phosphorsäure, wurde also zur Synthese des Lactacidogens verwendet. Auch die Atmung zerkleinerter Muskulatur wird in geringem Maße gehemmt, stark dagegen die Milchsäurebildung, wie die Untersuchungen von Lipmann (37) zeigten, und auch Lohmann (38) sah in Muskelbrei und Muskelextrakt

eine Hemmung des Desmolyse und der Dephosphorylierungen. Unter Fluorid wird nach Embden, Deuticke und Kraft (12) Hexosediphosphorsäure aufgebaut. Beim Abbau der Kohlehydrate bleibt nach Meyerhof (39) und Meyerhof und Kiessling (40) die Reaktion bei den beiden Stoffen Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure stehen, weil die Phosphoglycerinsäure nicht in Phosphobrenztraubensäure durch Wasseraustritt übergeht. So kommt es nach Embden, Deuticke und Kraft (41) unter dem Einfluß des Fluorions, „des synthesebegünstigenden Ions", zum Auftreten von Hexosediphosphorsäure, aber auch zur Bildung eines schwer spaltbaren Esters; dies ist die Phosphoglycerinsäure. Auch in fluoridvergifteter Hefe bleibt der Abbau nach Lehnhartz (42) auf der Stufe Phosphoglycerinsäure und Glycerinphosphorsäure stehen. Die letztere wurde durch Embden und Ickes (43) aus fluorvergifteter Muskulatur dargestellt. Die oxydoreduktive Umwandlung von Brenztraubensäure in Milchsäure wird durch Fluorid nicht beeinflußt; denn aus Brenztraubensäure und Glycerinphosphrsäure wird auch bei Fluoridgegenwart Milchsäure gebildet, wie Embden und Deuticke (44) zeigten (dagegen nicht in Monojodessigsäure).

Ähnliche Verhältnisse gelten auch für das Oxalat: Hemmung der Milchsäurebildung [Meyerhof (45)], Anhäufung schwer spaltbarer Ester [Haarmann (46)], Hemmung der Glykolyse in Rattenleberschnitten [Druckrey (47)]. Nach Deuticke (48) wird auch durch Oxalat die Lactacidogensynthese im Muskelpreßsaft stark begünstigt. — Dabei scheint es sich nicht um eine Kalkfällung zu handeln, sondern um eine Fermentvergiftung [s. K. Meyer (49) und Druckrey (47)]. Schon Meyerhof (45) sah die starke Hemmung der Atmung und Milchsäurebildung durch oxalsaures Salz, die nicht auf Ca-Fällung beruht.

Versuche:

Tabelle 2.

Einfluß der Vitamine auf die Fluoridvergiftung.

Ein Muskel in 0,004%, 0,01% und 0,02% NaF; der andere in Ca-freier Ringerlösung. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach 5	15	30	60	90 Minuten	
100 102	94	70	43	20	mit NaF
100 101	95	77	63	47	nur Ca-freier Ringer

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 89% mit NaF, 100% nur Ca-freier Ringer.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

− 6	− 12	− 12	+ 6	+ 34	mit NaF
− 9	− 16	− 21	− 23	− 20	nur Ca-freier Ringer

Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

2	0	0	17	46	52	mit NaF
0	0	3	24	24	26	nur Ca-freier Ringer

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen: 165% mit NaF, 100% nur Ca-freier Ringer.

Ergebnis: Kalkfreie Ringerlösung führt zu einer Schädigung der Zuckungshöhe, zu einer raschen Ermüdung und zu einer Dehnung des Muskels (= negative Kontraktur).

Der Zusatz von Fluorid zu kalkfreier Ringerlösung verstärkt die Abnahme der Zuckungshöhen, führt in den einzelnen Zuckungsserien zu beschleunigter Ermüdung, schädigt also die Muskeltätigkeit noch stärker als kalkfreie Ringerlösung. — Dagegen hemmt Fluorid die Dehnung; sie tritt zwar auch in Fluoridlösung anfänglich auf, dann aber schlägt die Dehnung in eine Kontraktur um.

Natriumfluorid und Betaxin.

Beide Muskeln in NaF 0,02%; einer unter Zusatz von Betaxin 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach	5	15	30	60	90 Minuten
100	96	88	64	36	27 mit Betaxin
100	99	96	58	26	24 ohne Betaxin, nur Fluorid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 102% mit Betaxin, 100% nur Fluorid.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

— 11	— 12	— 12	+ 6	+ 26 mit Betaxin
— 18	— 26	— 12	+ 6	+ 11 nur Fluorid

Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

3	4	17	25	50	58 mit Betaxin
0	3	19	29	47	63 nur Fluorid

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen: 99% mit Betaxin, 100% nur Fluorid.

Ergebnis: Betaxinzusatz zur Fluoridlösung hat keinen Einfluß auf die Abnahme der Zuckungshöhen, ebensowenig auf die Ermüdung in der Serie. Die anfängliche Dehnung, die wegen der Kalkfreiheit der Lösungen eintritt und erst verspätet vom Fluorid überwunden wird, so daß eine Kontraktur einsetzt, wird ebenfalls durch Betaxinzusatz nicht beeinflußt.

Natriumfluorid und Lactoflavin.

Beide Muskeln in Natriumfluorid 0,02%; einer unter Zusatz von Lactoflavin 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach	5	15	30	60	90 Minuten:
100	110	106	78	38	22 mit Lactoflavin
100	102	105	70	41	26 nur Fluorid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 102% mit Lactoflavin, 100% nur Fluorid.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

— 8	— 14	— 16	+ 5	+ 16 mit Lactoflavin
— 6	— 12	— 10	+ 14	+ 22 nur Fluorid

Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

0	3	12	39	57	74 mit Lactoflavin
0	0	22	37	59	75 nur Fluorid

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen: 96% mit Lactoflavin, 100% nur Fluorid.

Ergebnis: Lactoflavin hat keinen Einfluß auf den Ablauf der Fluoridvergiftung, die Abnahme der Zuckungshöhen, die Ausbildung der Kontraktur und die Ermüdung verlaufen wie ohne Lactoflavinzusatz.

Natriumfluorid und Nikotinsäureamid.

Beide Muskeln in Natriumfluorid 0,02%; einer unter Zusatz von Nikotinsäureamid 1 ccm 0,1%/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach 5	15	30	60	90 Minuten	
100 112	105	88	20	18	mit Nikotinsäureamid
100 111	111	75	23	18	nur Fluorid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 101% mit Nikotinsäureamid, 100% nur Fluorid.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

− 9	− 18	+ 6	+ 25	mit Nikotinsäureamid
− 3	− 8	+ 6	+ 24	nur Fluorid

Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

0	6	16	30	36 mit Nikotinsäureamid
0	8	13	30	41 nur Fluorid

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen: 95% mit Nikotinsäureamid, 100% nur Fluorid.

Ergebnis: Weder auf die Zuckungshöhe noch auf die Ermüdung noch auf die Kontraktur hat der Zusatz von Nikotinsäureamid einen Einfluß bei der Fluoridvergiftung.

Natriumfluorid und Cantan.

Beide Muskeln in Natriumfluorid 0,02%; einer unter Zusatz von Cantan 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach	5	15	30	60	90 Minuten
100	98	59	31	7	2 mit Cantan
100	96	59	35	13	5 nur Fluorid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 96% mit Cantan, 100% nur Fluorid.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

− 5	− 7	+ 15	+ 47	mit Cantan
− 12	− 18	− 2	+ 40	nur Fluorid

Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

1	9	17	49	74 mit Cantan
5	5	10	45	77 nur Fluorid

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen: 105% mit Cantan, 100% nur Fluorid.

Ergebnis: Weder auf die Zuckungshöhe noch auf die Ermüdung noch auf die Kontraktur hat Ascorbinsäure einen Einfluß bei der Fluoridvergiftung des Muskels. Es verläuft alles wie bei reiner Fluoridvergiftung.

Zusammenfassung: Es hat sich also nirgends ein Einfluß der wasserlöslichen Vitamine auf die Fluoridvergiftung des Muskels ergeben, weder hinsichtlich der Zuckungshöhe noch der Entwicklung der Kontraktur noch der Ermüdung in der Serie. Bei der speziellen Hemmung des Fluorids auf den Übergang der Phosphoglycerinsäure in die Phosphobrenztraubensäure ist auch ein Einfluß nicht zu erwarten.

Wenn man, um einen schnellen Überblick zu erlangen, die Zuckungssumme in Prozenten der Kontrollzuckung ausdrückt, und ebenso mit der Summe der Ermüdungen verfährt, so ergibt sich bei der Fluoridvergiftung:

	B_1 %	B_2 %	Nikotinsäureamid %	C %
Zuckung	102	102	101	96
Ermüdung	99	96	95	105

Die Zahlen sind also identisch; ein Einfluß der Vitamine auf diese Vergiftung ist ausgeschlossen.

2. Monojodessigsäure.

Nach Lundsgaard (6) verhindert monojodessigsaures Natrium die Milchsäurebildung, und zwar wird die Oxydoreduktion der Triosephosphorsäuren gehemmt, d. h. die Dismutation in Glycerinphosphorsäure und Phosphoglycerinsäure, und ebenso die Dismutation von Brenztraubensäure (zu Milchsäure) und Glycerinphosphorsäure [Meyerhof und Kiessling (9) und Embden und Deuticke (44) und Meyerhof (50)]. Verzár (13) sieht die Hauptwirkung der Monojodessigsäure in der Hemmung der Phosphorylierungen, beruhend auf Störung der damit verknüpften Oxydoreduktionen.

Da auch alle Fermentbildungen aus den Vitaminen über die Phosphorsäurebindung dieser Stoffe verlaufen, wodurch sie erst zu Co-Fermenten werden, hat die Monojodessigsäure einen viel allgemeineren Einfluß auf die Lebensvorgänge als nur eine Beeinträchtigung des Muskelstoffwechsels. So wird auch die Phosphorylierung des Lactoflavins durch Monojodessigsäure aufgehoben, und erst diese Kuppelung macht das Lactoflavin zum Co-Ferment; erst jetzt kann es den Nebennierenrindenausfall paralysieren [Verzár (13), S. 70, 103, 104, 222].

Nach Lundsgaard (6) hört nach Monojodessigsäure die postmortale Milchsäurebildung mit saurer Reaktion der Muskeln auf, sie reagieren eher etwas alkalisch; Orthophosphat nimmt bei Arbeit unter dem Einfluß der Monojodessigsäure nicht mehr zu, Phosphagen nimmt bis auf Null ab. Nach Wilbrandt und Laszt (51) verwischt Monojodessigsäure lokal am

Darm in der Konzentration 1 : 5000 den Unterschied in der Resorptionsgeschwindigkeit von Glucose und Xylose, weil bei ersterer die Phosphorylierung unter Monojodessigsäure ausbleibt, wie es normalerweise bei letzterer der Fall ist und weil diese Phosphorylierung die Resorption stark beschleunigt.

Nach v. Baeyer (8) wird bei der Monojodessigsäurevergiftung der Muskel heller, was auf einem Zerfall der Kreatinphosphorsäure beruht, deren Resynthese gehemmt ist. Bei der Coffeinvergiftung dagegen wird der Muskel dunkler, und zwar durch Milchsäurebildung. Gleich gegensätzlich verhält sich das Volumen des Muskels bei diesen beiden Vergiftungen: Kreatinphosphorsäure vermindert bei ihrem Zerfall das Volumen, Milchsäure vermehrt es, wie Meyerhof (52) zeigte. [Zusammenfassung: v. Muralt (7).]

Versuche:

Der Einfluß der Vitamine und der Nebennierenrindenhormone auf die Vergiftung mit Monojodessigsäure.

Tabelle 3.

Monojodessigsäure und Nebennierenrindenhormon.

Beide Muskeln in Monojodessigsäure 0,04%, teils in Ringerlösung, teils in phosphathaltiger Pufferlösung ($p_H = 7{,}3$). Cortidyn oder Pancortex 0,2 ccm/100 ccm. Alle 10 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	75	49	33	32	24	mit Nebennierenrindenhormon
100	78	48	33	32	23	ohne Nebennierenrindenhormon

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 99% mit Nebennierenrindenhormon; 100% ohne Nebennierenrindenhormon, nur Monojodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

3	35	64	50	64	mit Nebennierenrindenhormon
9	38	62	61	83	ohne „ nur Monojodessigsäure.

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 84% mit Nebennierenrindenhormon; 100% ohne Nebennierenrindenhormon, nur Monojodessigsäure.

Ergebnis: Auf die Abnahme der Zuckungshöhe durch Monojodessigsäure hat der Zusatz von Nebennierenrindenhormon keinen Einfluß, auch wohl nicht auf die Ausbildung der Kontraktur, wenn sie auch etwas geringer ist als die Kontraktur in Monojodessigsäure allein. — Jedenfalls läßt sich am Muskel die Vergiftung durch Monojodessigsäure nicht durch Nebennierenrindenhormon verhindern, ja nicht einmal in günstigem Sinne beeinflussen; es fehlt also die Gegenwirkung dieser Stoffe am isolierten Muskel.

Monojodessigsäure und Aneurin.

Beide Muskeln in Monojodessigsäure 0,04%, Betaxin Bayer 0,2 ccm/100 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhen in Prozenten der Anfangszuckung:

100	86	65	49	35	19	13	9	8	10	0 mit B_1
100	87	68	47	37	31	18	12	7	5	1 ohne B_1

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 95% mit B_1, 100% ohne B_1.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

4	2	13	28	44	62	63	70	79	115 mit B_1
1	7	16	44	68	81	78	90	99	126 ohne B_1

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 77% mit B_1, 100% ohne B_1.

Zusatz von Nebennierenrindenhormon zu Aneurin. Betaxin + Pancortex 0,2 ccm/100 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	63	67	58	48	19	6	5	2	0	0 mit B_1 + NNRH
100	97	73	68	65	44	22	12	9	7	5 ohne B_1 + NNRH

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 73% mit B_1 + NNRH; 100% ohne B_1 + NNRH, nur Monojodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

1	31	49	63	44	72	83	96	101	102	108 mit B_1 + NNRH
2	18	32	41	32	70	93	114	130	144	166 ohne B_1 + NNRH

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 89% mit B_1 + NNRH; 100% ohne B_1 + NNRH, nur Monojodessigsäure.

Ergebnis: Aneurin beeinflußt die Zuckungen nicht, verhindert aber in geringem Maße die Kontrakturwirkung der Jodessigsäure. Zusatz von Nebennierenrindenhormon macht das Aneurin nicht wirksamer, im Gegenteil werden die Zuckungen kleiner und die Kontraktur größer. (Die Versuche mit Aneurin allein streuen wenig, mehr dagegen die mit Pancortexzusatz.) [Molnár und Petrányi (Klin. Wschr. **1939**, S. 1191) sahen das Vitamin B_1 erst nach Zugabe von Nebennierenrindenhormon in einem Krankheitsfall wirksam werden, also erst nach Phosphorylierung.)

Monojodessigsäure und Lactoflavin.

Beide Muskeln in Monojodessigsäure 0,04%; Lactoflavin Bayer 0,2 ccm/100 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	95	94	74	56	23	26	15	9	5	0 mit B_2
100	101	101	79	50	37	26	18	14	10	0 ohne B_2

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 93% mit B_2; 100% ohne B_2, nur Jodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

0	1	12	28	45	71	88	95	105	133 mit B_2
0	0	10	31	49	68	78	89	101	125 ohne B_2

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 104% mit B_2; 100% ohne B_2, nur Jodessigsäure.

Zusatz von Nebennierenrindenhormon, teils Cortidyn, teils Pancortex 0,2 ccm pro 100 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	95	57	23	5	3	2	0	0 mit B_2 + NNRH
100	98	61	36	16	7	3	1	0 ohne B_2 + NNRH

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 89% mit B_2 + NNRH; 100% ohne B_2 + NNRH, nur Jodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

2	34	63	82	96	108	124	mit B_2 + NNRH
0	23	40	63	73	98	108	ohne B_2 + NNRH

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 126% mit B_2 + NNRH; 100% ohne B_2 + NNRH, nur Jodessigsäure.

Monojodessigsäure und Lactoflavinphosphorsäure.

Lactoflavinphosphorsäure Bayer 0,2 ccm/100 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	103	70	11	10	5	3 mit Lactoflavinphosphorsäure
100	99	67	14	14	9	10 ohne Lactoflavinphosphorsäure

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 97% mit Lactoflavinphosphorsäure; 100% ohne Lactoflavinphosphorsäure, nur Jodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

0	29	64	103	117	125	mit Lactoflavinphosphorsäure
0	28	67	88	97	100	ohne Lactoflavinphosphorsäure

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 115% mit Lactoflavinphosphorsäure; 100% ohne Lactoflavinphosphorsäure, nur Jodessigsäure.

Ergebnis: Wider Erwarten hat weder Lactoflavin noch Lactoflavinphosphorsäure einen Einfluß auf die Monojodessigsäurevergiftung. Die Zuckungen und die Kontraktur werden nicht verändert. Der Zusatz von NNRH zu Lactoflavin, der daraus die Phosphorsäureverbindung machen sollte, zeigte eine geringe Verstärkung der Kontrakturwirkung der Monojodessigsäure, die wohl noch in die Fehlergrenzen fällt; denn fertige Lactoflavinphosphorsäure zeigte diese Wirkung nicht.

Monojodessigsäure und Nikotinsäureamid.

Beide Muskeln in Monojodessigsäure 0,04%; Nikotinsäureamid 1 ccm 0,1% auf 100 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	88	54	12	7	5	4 mit Nikotinsäureamid
100	104	42	7	3	2	3 ohne Nikotinsäureamid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 103% mit Nikotinsäureamid; 100% ohne Nikotinsäureamid, nur Jodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

0	15	45	62	77	mit Nikotinsäureamid
0	33	74	101	118	ohne Nikotinsäureamid

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 61% mit Nikotinsäureamid; 100% ohne Nikotinsäureamid, nur Jodessigsäure. Zusatz von Nebennierenrindenhormon, Pancortex 0,2 ccm/100 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	102	82	55	31	45	8	0	mit Nikotinsäureamid + NNRH
100	100	71	56	51	30	19	16	ohne Nikotinsäureamid + NNRH

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 95% mit Nikotinsäureamid + NNRH; 100% ohne Nikotinsäureamid + NNRH, nur Jodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

2	22	63	64	84	108	75	108	mit Nikotinsäureamid + NNRH
6	38	64	64	81	111	87	77	ohne Nikotinsäureamid + NNRH

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 99% mit Nikotinsäureamid + NNRH; 100% ohne Nikotinsäureamid + NNRH, nur Jodessigsäure.

Ergebnis: Nikotinsäureamid hat auf die Zuckungshöhenabnahme durch Monojodessigsäure keinen Einfluß, auch in Kombination mit Nebennierenrindenhormon nicht. Dagegen verhindert es die Kontraktur durch Monojodessigsäure. Diese Wirkung wird durch Nebennierenrindenhormon wieder aufgehoben.

Monojodessigsäure und Ascorbinsäure.

Beide Muskeln in Monojodessigsäure 0,04%; Ascorbinsäure als Cantan 0,2 ccm pro 100 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	99	90	74	57	45	32	26	17	15	13	13	10	8	4	1	1
100	102	90	81	66	42	29	22	17	8	7	6	4	4	4	2	0

Oben: mit Ascorbinsäure,
Unten: ohne Ascorbinsäure, nur Jodessigsäure.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 103% mit Ascorbinsäure; 100% ohne Ascorbinsäure, nur Jodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

0	4	21	31	41	52	60	70	73	64	71	72	77	87	106	118
0	2	10	18	42	62	76	88	108	103	106	111	114	112	109	113

Oben: mit Ascorbinsäure,
Unten: ohne Ascorbinsäure, nur Jodessigsäure.

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 81% mit Ascorbinsäure; 100% ohne Ascorbinsäure, nur Jodessigsäure.

Ergebnis: Ascorbinsäure hat weder auf die Abnahme der Zuckungshöhe noch auf die Ausbildung der Kontraktur nach Monojodessigsäure einen Einfluß.

Monojodessigsäure und Adenosintriphosphorsäure.

Beide Muskeln in Monojodessigsäure 0,004%; einer außerdem Zusatz von Adenosintriphosphorsäure 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	106	100	100	98	93	74	66	41	31	23	15	9	4	2	2	0
100	99	99	98	98	96	80	69	52	44	36	26	16	10	4	4	3

Oben: mit Adenosintriphosphorsäure,
Unten: ohne Adenosintriphosphorsäure, nur Monojodessigsäure.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 92% mit Adenosintriphosphorsäure; 100% ohne Adenosintriphosphorsäure, nur Monojodessigsäure.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

0 0 0 1 14 40 72 95 114 127 142 mit Adenosintriphosphorsäure
0 0 1 2 10 54 62 87 102 115 127 ohne Adenosintriphosphorsäure

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen: 106% mit Adenosintriphosphorsäure; 100% ohne Adenosintriphosphorsäure, nur Monojodessigsäure.

Zusammenfassung: Es wurden bei dieser Vergiftung zunächst Versuche mit den Nebennierenrindenpräparaten Cortidyn und Pancortex angestellt, weil die Vergiftung durch Monojodessigsäure auf Behinderung der Phosphorylierungen beruht, welche Nebennierenrinde herbeiführt. Daher wurden auch die Vitamine nicht nur allein, sondern auch nach Zusatz von Nebennierenrindenhormon untersucht, um festzustellen, ob sie vielleicht erst nach dieser Beigabe wirksam werden; denn auch sie bedürfen der Phosphorylierung.

Der Einfluß der Vitamine ist gering, auch nach Zusatz von Nebennierenrindenhormon, das selbst keinen Einfluß auf den Verlauf der Vergiftung mit Monojodessigsäure hat; im Gegenteil, wo sich eine Schutzwirkung zeigte, beim Nikotinsäureamid hinsichtlich der Kontraktur, wird sie durch Nebennierenhormon aufgehoben. Beim Lactoflavin wird sogar die Kontraktur durch Zugabe von Nebennierenrindenhormon etwas verstärkt. Überhaupt ist ja die Unwirksamkeit von Lactoflavin und Lactoflavinphosphorsäure gegenüber der Monojodessigsäurevergiftung überraschend. Einzig das Nikotinsäureamid verhindert die Kontraktur durch Jodessigsäure, vielleicht auch Aneurin in geringem Maße. Auf die Zuckung haben die Stoffe keine Wirkung.

Da Adenosintriphosphorsäure ebenfalls einen Einfluß auf die Phosphorylierungen ausübt, wurde anhangsweise der Einfluß der Adenosintriphosphorsäure auf die Monojodessigsäurevergiftung untersucht. Zur Anwendung kam Adenosintriphosphorsäure von Dr. Henning (1 ccm = 10 mg Adenosintriphosphorsäure). Sie hatte keinen Einfluß auf die Zuckung oder die Kontraktur bei der Monojodessigsäurevergiftung.

Die Zahlen in Prozenten der Kontrollzuckungen oder Kontrollkontrakturen lauten:

	NNRH	B_1	B_1 + NNRH	B_2	B_2 + NNRH	B_2-Phosphorsäure	Nikotinsäureamid	Nikotinsäureamid + NNRH	Vit.-C	Adenosintriphosphors.
Zuckung ..	99	95	73	93	89	97	103	95	103	92
Kontraktur	84	77	88	104	126	115	61	99	81	111

3. Phlorrhizin.

Ganz ähnliche Schädigungen im Kohlehydratabbau ruft auch Phlorrhizin hervor, nur daß es die Phosphorylierung selbst verhindert, nicht die damit verbundenen Oxydoreduktionen [Verzár (13), S. 70, und Meyerhof (50)]. Es wird also schon die Phosphorylierung der Hexose

APR 7 1949

zu Hexosemono- und Hexosediphosphorsäure aufgehoben. Auch im fluoridvergifteten Froschmuskelbrei wird die Esterifizierung durch Phlorrhizin m/100 um 70–90%, durch m/50 um 100% nach Lundsgaard (53) gehemmt. Die Glykogenolyse im Froschmuskelbrei wird durch Phlorrhizin m/50 nachweisbar gehemmt, aber nur um 59—67%. m/50—m/100 Phlorrhizin hemmt auch die Dephosphorylierung durch Nierenphosphatase erheblich. Die Milchsäurebildung im nicht mit Fluorid vergifteten Muskelbrei wird durch Phlorrhizin m/100 um 56—77%, durch m/50 um 85—100% herabgesetzt. Beim Phlorrhizindiabetes wird nur in der Niere eine genügende Konzentration erreicht, beim Durchströmen des Froschhinterleibes dagegen nicht. Ebenso fanden Liljestrand und Lundsgaard (54) beim Durchströmen des Hinterschenkels phlorrhizinvergifteter Katzen die Zuckerausnutzung nicht geringer als bei normalen Katzen. Die Verfasser meinen, daß Phlorrhizin im Muskel nur in geringem Maße abgelagert wird, in Leber und besonders in der Niere aber eine höhere Konzentration erreichen wird, so daß es dort zur Hemmung der Phosphorylierungsvorgänge kommen kann, während die Muskulatur noch unvergiftet ist.

Nach Wetzel und v. Zitzewitz (55) hemmt Phlorrhizin die Kohlehydratverbrennung neben allgemeiner Herabsetzung der Atmung. An Leber- und Zwerchfellschnitten von weißen Ratten sah Wetzel (56) den Sauerstoffverbrauch um 20—30% durch m/1000 Phlorrhizin sinken. Auch das gelbe Ferment wird durch Phlorrhizin gehemmt.

Versuche:

Tabelle 4.

Einfluß der Vitamine auf die Phlorrhizinvergiftung.

Beide Muskeln in Phlorrhizin 0,3/100; einer unter Zusatz von Betabion 0,2 ccm pro 50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach	5	15	30	45	60	90 Minuten	
100	78	57	37	22	10	1	mit Betabion
100	87	69	46	33	19	2	ohne Betabion

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 83% mit Betabion; 100% ohne Betabion, nur Phlorrhizin.

Beide Muskeln in Phlorrhizin 0,1/100; einer unter Zusatz von Lactoflavin 0,2 ccm/50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	84	65	49	32	20	2	mit Lactoflavin
100	89	68	46	34	23	4	ohne Lactoflavin

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 97% mit Lactoflavin; 100% ohne Lactoflavin, nur Phlorrhizin.

Beide Muskeln in Phlorrhizin 0,3/100; einer unter Zusatz von Lactoflavinphosphorsäure 0,2 ccm/50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	82	45	26	17	11	3	mit Lactoflavinphosphorsäure
100	82	42	25	16	10	4	ohne Lactoflavinphosphorsäure

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 102% mit Lactoflavinphosphorsäure; 100% ohne Lactoflavinphosphorsäure, nur Phlorrhizin.

Beide Muskeln in Phlorrhizin 0,3/100; einer unter Zusatz von Nikotinsäureamid 1 ccm (10%)/50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	78	51	29	18	12	6	2 mit Nikotinsäureamid
100	77	58	38	31	23	9	5 ohne Nikotinsäureamid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 87% mit Nikotinsäureamid; 100% ohne Nikotinsäureamid, nur Phlorrhizin.

Beide Muskeln in Phlorrhizin 0,3/100; einer unter Zusatz von Cebion 0,2/50.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	71	47	31	20	8	1 mit Cebion
100	85	54	34	23	9	2 ohne Cebion

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 91% mit Cebion; 100% ohne Cebion, nur Phlorrhizin.

Beide Muskeln in Phlorrhizin; einer unter Zusatz von Pancortex: Phlorrhizin 0,3/100; Pancortex 0,2 ccm/50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	67	19	2	1 ohne Pancortex
100	56	11	1	0 mit Pancortex

Phlorrhizin 0,1/100; Pancortex 0,2 ccm/50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	85	60	39	27	14	mit Pancortex
100	87	68	36	30	22	ohne Pancortex

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 101% mit Pancortex; 100% ohne Pancortex, nur Phlorrhizin.

Zusammenfassung: Wie aus den Versuchen hervorgeht, haben die Vitamine keinen Einfluß auf die Phlorrhizinvergiftung des Muskels gezeigt, auch das Hormon der Nebennierenrinde nicht. Zur Übersicht führe ich die Zahlen für die Zuckungshöhen, und zwar deren Summen, in Prozenten der Kontrollzuckungen an:

	B_1	B_2	B_2-Phosphorsäure	Nikotinsäureamid	C	NNRH
Zuckung	83	97	102	87	91	101

4. Coffein.

Schon Meyerhof (45) hat bei der Vergiftung des Muskels mit Coffein — bei der Coffeinstarre — eine erhöhte Milchsäurebildung festgestellt und außerdem eine erhebliche Steigerung des Sauerstoffverbrauches, und zwar eine Steigerung der Milchsäurebildung und Atmung um 60—100%. Diese Beobachtungen werden durch eine Untersuchung von Riesser und Neuschlosz (57) erweitert. Sie beschreiben die Erscheinungen am Muskel nach den Untersuchungen von Dreser (58), v. Fürth (59), Jacobj und

Golowinski (60), v. Fürth und Schwarz (61) und Seches (62) folgendermaßen: „1. Bei geringen Konzentrationen erhöht Coffein die isotonische Einzelzuckung des Muskels. 2. Bei periodischer Reizung ermüdet der mit Coffein vergiftete Muskel früher als der normale. 3. Bei höheren Coffeinkonzentrationen gerät der Muskel mehr oder weniger schnell in Kontraktur, die allmählich, bei sehr starken Giftdosen ziemlich schnell in irreversible Starre übergeht. 4. Die Wirkungen nicht zu hoher Konzentrationen sind, wenn sie sich in Kontraktur äußern, reversibel." Sie fanden nun bei der durch Coffein erzeugten Kontraktur des Froschmuskels eine erhebliche Abnahme des Lactacidogens unter gleichzeitiger Säureanhäufung im Muskel. Die vermehrte Milchsäurebildung und eine von den beiden Autoren beobachtete gesteigerte Phosphorsäurebildung bedingen die Kontraktur des Muskels. Die Lactacidogenmenge kommt nach Coffeinvergiftung bei dem in Ringerscher Flüssigkeit befindlichen Muskel nicht mehr auf die ursprüngliche Höhe. Sie halten daher die Aufhebung der Restitutionsprozesse im Muskel für die Ursache der Erscheinungen der Coffeinvergiftung.

Versuche:

Tabelle 5.

Einfluß der Vitamine auf die Coffeinvergiftung.

Coffein und Aneurin.

Beide Muskeln in Coffeinlösung; einer unter Zusatz von Betaxin 0,2/50. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	68	37	27	10		mit B_1	Coffein 1 : 1000
100	78	28	25	8		ohne B_1	
100	121	109	75	9		mit B_1	Coffein 1 : 1500
100	126	105	71	41	13	ohne B_1	
100	136	79	53	32	11	mit B_1	Coffein 1 : 2000
100	149	105	69	24	16	ohne B_1	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

100	98	67	57	14	mit B_1
100	107	67	48	21	ohne B_1

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen:

100% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 1000
91% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 1500
88% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

98% mit B_1, 100% ohne B_1

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

39	111	91	162		mit B_1	Coffein 1 : 1000
26	99	92	121		ohne B_1	
6	19	34	96	81	mit B_1	Coffein 1 : 1500
4	11	25	70	75	ohne B_1	
0	0	8	38	84	mit B_1	Coffein 1 : 2000
0	0	5	38	43	ohne B_1	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

21 61 57 117 mit B_1
14 54 55 89 ohne B_1

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen:

119% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 1000
128% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 1500
151% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt: Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

121% mit B_1, 100% ohne B_1

Durchschnittliche Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

2	57	66	92	97	mit B_1	Coffein 1 : 1000
10	50	72	82	77	ohne B_1	
3	22	50	76	87	mit B_1	Coffein 1 : 1500
2	17	54	74	90	ohne B_1	
24	36	91	67	78	94 mit B_1	Coffein 1 : 2000
31	46	67	79	84	93 ohne B_1	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

7 43 66 82 90 mit B_1
13 39 66 79 82 ohne B_1

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen:

101% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 1000
100% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 1500
98% mit B_1, 100% ohne B_1, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

103% mit B_1, 100% ohne B_1

Ergebnis: Aneurin hat auf die Zuckungshöhe keinen Einfluß bei der Coffeinvergiftung des Muskels.

Die Coffeinkontraktur wird durch Aneurin verstärkt.

Auf die Ermüdung unter Coffein in einer Reizserie hat Aneurin keinen Einfluß. (Die Versuche verlaufen alle gleichsinnig.)

Coffein und Lactoflavin.

Beide Muskeln in Coffeinlösung; einer unter Zusatz von Lactoflavin (Bayer) 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	94	26	11		mit B_2	Coffein 1 : 1000
100	85	40	8		ohne B_2	
100	135	102	67	28	5 mit B_2	Coffein 1 : 1500
100	146	106	55	18	4 ohne B_2	
100	130	110	93	59	38 mit B_2	Coffein 1 : 2000
100	121	106	98	63	32 ohne B_2	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

100 123 88 66 46 24 mit B_2
100 110 91 64 44 20 ohne B_2

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen:

99% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 1000
102% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 1500
102% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
102% mit B_2, 100% ohne B_2

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

70	115	136			mit B_2	Coffein 1 : 1000
56	118	218			ohne B_2	
18	24	66	96	145	mit B_2	Coffein 1 : 1500
14	38	71	116	173	ohne B_2	
1	3	6	23		mit B_2	Coffein 1 : 2000
0	1	7	25		ohne B_2	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

22	35	55	53 mit B_2
17	39	75	62 ohne B_2

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen:

82% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 1000
84% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 1500
100% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
85% mit B_2, 100% ohne B_2

Durchschnittliche Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

8	67	79	100		mit B_2	Coffein 1 : 1000
8	62	85	98		ohne B_2	
7	25	53	74	84	97 mit B_2	Coffein 1 : 1500
5	24	61	77	87	97 ohne B_2	
1	3	25	45	41	48 mit B_2	Coffein 1 : 2000
2	0	33	40	37	48 ohne B_2	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

5	25	45	66 mit B_2
4	22	54	63 ohne B_2

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen:

100% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 1000
97% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 1500
102% mit B_2, 100% ohne B_2, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
99% mit B_2, 100% ohne B_2

Ergebnis: Lactoflavin ändert die Zuckungshöhen bei der Coffeinvergiftung nicht. Es scheint in geringem Grade die Coffeinkontraktur zu hemmen.

Die Coffeinermüdung in der Serie wird durch Lactoflavin nicht beeinflußt.

Coffein und Lactoflavinphosphorsäure.

Beide Muskeln in Coffeinlösung; einer unter Zusatz von Lactoflavinphosphorsäure (Bayer) 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	99	50			mit L.-P.	Coffein 1 : 1000
100	108	72			ohne L.-P.	
100	129	92	45	13	mit L.-P.	Coffein 1 : 1500
100	109	76	35	12	ohne L.-P.	
100	142	100	65	39	11 mit L.-P.	Coffein 1 : 2000
100	126	84	56	20	2 ohne L.-P.	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

100	129	88	mit L.-P.
100	114	78	ohne L.-P.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen:

89% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 1000
114% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 1500
117% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

108% mit L.-P., 100% ohne L.-P.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

125	216				mit L.-P.	Coffein 1 : 1000
52	108				ohne L.-P.	
16	25	105			mit L.-P.	Coffein 1 : 1500
13	21	32			ohne L.-P.	
0	0	1	16	65	mit L.-P.	Coffein 1 : 2000
0	0	5	2	73	ohne L.-P.	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

29	49	63	mit L.-P.
15	29	21	ohne L.-P.

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen:

214% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 1000
221% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 1500
102% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

217% mit L.-P., 100% ohne L.-P.

Durchschnittliche Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

0	48	67			mit L.-P.	Coffein 1 : 1000
0	55	62			ohne L.-P.	
12	35	61	81	87	mit L.-P.	Coffein 1 : 1500
20	41	68	86	90	ohne L.-P.	
16	20	31	37	15	mit L.-P.	Coffein 1 : 2000
17	2	49	62	43	ohne L.-P.	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

11	32	52	63	58	mit L.-P.
6	30	61	76	71	ohne L.-P.

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen:

98% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 1000
90% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 1500
69% mit L.-P., 100% ohne L.-P., Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

85% mit L.-P., 100% ohne L.-P.

Ergebnis: Lactoflavinphosphorsäure beeinflußt die Zuckungshöhen bei der Coffeinvergiftung nicht, oder doch nur angedeutet. Und zwar scheint es die Coffeinwirkung zu unterstützen: bei starken schädigenden Coffeinkonzentrationen werden die Zuckungen durch Lactoflavinphosphorsäurezusatz weiter geschädigt, bei den dünnen Coffeinlösungen, welche die Zuckungen vergrößern, steigert Lactoflavinphosphorsäurezusatz die Zuckungshöhe noch stärker; aber diese Wirkungen sind nicht sehr ausgeprägt.

Die Kontrakturen durch Coffein werden durch Lactoflavinphosphorsäurezusatz deutlich verstärkt.

Die Ermüdung in der Serie nach Coffein wird kaum beeinflußt, wohl ein klein wenig gehemmt.

Coffein und Nikotinsäureamid.

Beide Muskeln in Coffeinlösung; einer unter Zusatz von Nikotinsäureamid, 1 ccm 0,1% zu 50 ccm; alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	127	72	60			mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 1000
100	116	54	27			ohne Nik.-S.-A.	
100	108	56	21	10	4	mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 1500
100	117	67	30	14	4	ohne Nik.-S.-A.	
100	133	114	91	61	46	mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 2000
100	127	118	90	61	31	ohne Nik.-S.-A.	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

100	118	75	47	28	18 mit Nik.-S.-A.
100	119	77	45	29	13 ohne Nik.-S.-A.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen:

121% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 1000
90% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 1500
103% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

101% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A.

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

29	137			mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 1000
61	177			ohne Nik.-S.-A.	
16	32	88	53	mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 1500
5	32	56	106	ohne Nik.-S.-A.	
0	5	14	67	mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 2000
0	9	17	56	ohne Nik.-S.-A.	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

14	46	63	57	mit Nik.-S.-A.
14	55	43	89	ohne Nik.-S.-A.

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen:

70% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 1000
95% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 1500
105% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
90% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A.

Durchschnittliche Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

4	29	54				mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 1000
5	36	69				ohne Nik.-S.-A.	
11	44	77	79	82	92	mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 1500
10	37	71	73	87	93	ohne Nik.-S.-A.	
5	17	42	65	70		mit Nik.-S.-A.	Coffein 1 : 2000
9	31	53	70	70		ohne Nik.-S.-A.	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

8	34	63	74	78	mit Nik.-S.-A.
9	35	66	72	81	ohne Nik.-S.-A.

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen:

79% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 1000
104% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 1500
85% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A., Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
98% mit Nik.-S.-A., 100% ohne Nik.-S.-A.

Ergebnis: Nikotinsäureamid hat keinen Einfluß auf die Zuckungshöhe bei Coffeinvergiftung.

In starken Coffeinlösungen wird die Kontraktur durch Nikotinsäureamid gehemmt.

Auf die Ermüdung in der Serie hat Nikotinsäureamid keinen Einfluß.

Coffein und Ascorbinsäure.

Beide Muskeln in Coffeinlösung; einer unter Zusatz von Cantan 0,2 ccm zu 50 ccm; alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	76	21	3			mit Cantan	Coffein 1 : 1000
100	72	16	4			ohne Cantan	
100	88	69	38	14		mit Cantan	Coffein 1 : 1500
100	95	68	41	7		ohne Cantan	
100	107	77	38	13	1	mit Cantan	Coffein 1 : 2000
100	102	80	49	11	2	ohne Cantan	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

100	89	55	26	14	mit Cantan
100	89	54	31	8	ohne Cantan

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen:

104% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 1000
99% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 1500
98% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
101% mit Cantan, 100% ohne Cantan

Durchschnittliche Kontraktur in Prozenten der Anfangszuckung:

55	184	135			mit Cantan	Coffein 1 : 1000
53	151	194			ohne Cantan	
4	3	17	55		mit Cantan	Coffein 1 : 1500
3	9	23	97		ohne Cantan	
2	16	74	99	87	mit Cantan	Coffein 1 : 2000
0	2	13	45	107	ohne Cantan	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

21	66	71	71 mit Cantan
19	55	69	77 ohne Cantan

Alle Kontrakturen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollkontrakturen:

94% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 1000
60% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 1500
166% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

104% mit Cantan, 100% ohne Cantan

Durchschnittliche Ermüdung in der Serie in Prozenten der jeweiligen Anfangszuckung:

6	64	67			mit Cantan	Coffein 1 : 1000
12	67	81			ohne Cantan	
11	50	72	86	87	mit Cantan	Coffein 1 : 1500
6	38	69	88	98	ohne Cantan	
11	42	75	80	96	mit Cantan	Coffein 1 : 2000
20	36	49	78	88	ohne Cantan	

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:

9	53	71	84	90 mit Cantan
11	47	68	84	94 ohne Cantan

Alle Ermüdungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollermüdungen:

86% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 1000
102% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 1500
112% mit Cantan, 100% ohne Cantan, Coffein 1 : 2000

Durchschnitt; Coffein 1 : 1000, 1500, 2000:
101% mit Cantan, 100% ohne Cantan

Ergebnis: Ascorbinsäure hat keinen Einfluß auf die Zuckungshöhe bei der Coffeinvergiftung; ebenso wenig beeinflußt sie die Ermüdung nach Coffein. Bei der Ausbildung der Coffeinkontraktur sind aber deutliche Unterschiede bei Ascorbinsäurezusatz zu sehen; bald wird die Kontraktur verstärkt, bald abgeschwächt. So wechselnd wie die Durchschnittszahlen der Versuche mit verschiedenen Konzentrationen sind, so verschieden sind auch die einzelnen Versuche unter sich. Es ergeben sich aber beim Zusatz von Ascorbinsäure zu dem Coffeinlösungen doch häufig so deutliche Unterschiede, wie sie sonst nicht auftreten. Es muß also wohl irgendein Einfluß vorliegen, wenn er auch nicht in der gleichen Richtung in allen Versuchen verläuft. Der Gesamtdurchschnitt der Kontrakturen ist mit und ohne Ascorbinsäurezusatz gleich, aber die Einzelwerte weisen eine sonst nicht auftretende Streuung auf.

Zusammenfassung: Auf die Zuckungshöhen bei der Coffeinvergiftung haben die Vitamine kaum einen Einfluß, sicher nicht Aneurin, Lactoflavin, Nikotinsäureamid und Ascorbinsäure. Die Lactoflavin-

phosphorsäure scheint die Coffeinschädigung der Zuckungshöhe zu unterstützen, aber auch die Zunahme der Zuckungshöhe, die besonders am Anfang der Wirkung niedriger Konzentrationen eintritt; es wird also die fördernde wie die schädigende Wirkung des Coffeins durch Lactoflavinphosphorsäure verstärkt.

Auf die Ermüdung in der Serie haben sich alle Vitamine als unwirksam erwiesen.

Dagegen wird die Coffeinkontraktur durch Aneurin verstärkt, durch Lactoflavin etwas gehemmt, durch Lactoflavinphosphorsäure deutlich vermehrt, durch Nikotinsäureamid etwas vermindert und durch Ascorbinsäure in verschiedener Richtung beeinflußt.

Übersicht in Prozenten der Kontrollen:

	B_1	B_2	B_2-Phosphorsäure	Nikotinsäureamid	C
Zuckung	98	102	108	101	101
Kontraktur	121	85	217	90	104
Ermüdung	103	99	85	98	101

5. Kaliumcyanid.

Die Hemmung der Oxydationen durch Blausäure hat zur Folge, daß der Zusammenhang von Atmung und Milchsäurebildung, der gewöhnlich nach Meyerhof (45) besteht, zerrissen ist. Blausäure hemmt zwar in KCN m/2000 die Atmung um 75—80%, „die Milchsäurebildung wird aber nicht eingeschränkt oder doch nur wenig im Verlauf von Stunden" [Riesser und Simonson (63)]. Bei m/1200 KCN wird die Bildung der Milchsäure aus Glykogen vollständig aufgehoben — infolge Lähmung der Muskeldiastase —, dagegen nicht die aus Glucose [Meyerhof (45)]. Es wird also der Abbau der Kohlehydrate nicht aufgehoben, aber die Verbrennung der Milchsäure und damit ihre Resynthese (= Herabsetzung der Atmung, unveränderte Milchsäurebildung). Auch andere Fermente, nicht nur die sauerstoffübertragenden werden beeinträchtigt [s. Houben (64)]. Im allgemeinen nimmt man die Hemmung der Oxydationen als die Grundwirkung der Blausäure an, und zwar wirkt sie durch Komplexbildung mit dem Eisen nach Warburg oxydationshemmend.

NaCN hemmt nach Wilbrandt und Laszt (65) die selektive Resorption von Glucose im Vergleich zur Xylose aus dem Darm nicht (0,8 mg pro 100 g Tier). Blausäure hemmt also die Phosphorylierungen nicht. Dagegen wird die Phosphorylierung von Lactoflavin durch KCN (1 : 10000) aufgehoben (nicht durch Phlorrhizin (1 : 50000) oder Jodessigsäure (1 : 400), [Verzár (13), S. 102]. Ferner erwähnt Hess (24), „daß bei Reistauben schon vor dem Termin des spontanen Ausbruches durch ausnehmend kleine Blausäuredosen starke Anfälle ausgelöst werden können;" nach Hess (25) kann man eine akute Avitaminose durch Blausäure bei Tauben erzeugen; das Krankheitsbild stimme in allen Einzelheiten.

Versuche:

Tabelle 6.

Einfluß der Vitamine auf die KCN-Vergiftung.

Beide Muskeln in 0,01% KCN; einer unter Zusatz der Vitamine. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Mit Betaxin 0,2 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100 104 93 83 73 79 69 60 54 49 52 44 43 mit Betaxin
100 95 91 82 66 67 60 51 44 40 39 34 28 ohne Betaxin

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 113% mit Betaxin, 100% ohne Betaxin

Mit Lactoflavin 0,2 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100 90 83 75 66 61 58 64 56 52 45 42 39 mit Lactoflavin
100 103 102 90 90 78 74 95 90 86 76 68 66 ohne Lactoflavin

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 73% mit Lactoflavin, 100% ohne Lactoflavin

Mit Lactoflavinphosphorsäure 0,2 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100 104 100 100 93 84 77 72 62 49 42 34 34 mit Lactofl.-Phosphors.
100 101 94 89 80 67 60 57 51 40 34 25 21 ohne Lactofl.-Phosphors.

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 116% mit Lactoflavinphosphorsäure, 100% ohne Lactoflavinphosphorsäure

Mit Nikotinsäureamid 1 ccm 0,1% auf 50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100 97 92 88 87 84 80 65 60 37 36 2 mit Nikotinsäureamid
100 103 93 89 90 84 81 69 57 45 26 8 ohne Nikotinsäureamid

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 98% mit Nikotinsäureamid, 100% ohne Nikotinsäureamid

Mit Cantan 0,2 ccm/50 ccm. Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100 93 91 89 88 111 105 104 92 79 81 64 56 mit Cantan
100 95 90 90 85 95 87 87 81 73 63 50 44 ohne Cantan

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 110% mit Cantan, 100% ohne Cantan

Zusammenfassung: Auf die Zuckungshöhen bei der KCN-Vergiftung hat nur das Lactoflavin einen geringen Einfluß ausgeübt, und zwar im Sinne einer weiteren Schädigung des Muskels. Die anderen Vitamine erwiesen sich als unwirksam.

Übersicht in Prozenten der Kontrollen:

	B_1	B_2	B_2-Phosphorsäure	Nikotinsäureamid	C
Zuckung.....	113	73	116	98	110

6. Narkotica.

Die Narkotica wurden in den Bereich der Untersuchungen gezogen, weil auch die Narkose eine Schädigung der Muskeltätigkeit darstellt. Anfänglich aber tritt häufig eine Erhöhung der Zuckung ein; ich (66) habe diese Steigerung der Leistung als scheinbar ausgelegt und als den Beginn einer Erholungsstörung aufgefaßt, weil nicht nur die Höhe der Zuckung vergrößert ist, sondern auch der Abfall in die Länge gezogen ist. Außerdem zeigen die Muskeln in einem Stadium der Vergiftung, in dem die Einzelzuckung erhöht ist, auf tetanischen Reiz hin ein schnelles Nachlassen ihrer Verkürzung unter zitterndem Absinken der Kurve; es sind also schon Schädigungen nachzuweisen, wenn auf einen Einzelreiz eine Leistungssteigerung vorgetäuscht wird. Offenbar bleibt die Substanz, welche die Kontraktion auslöst und welche für gewöhnlich sehr schnell — schon während der Ausbildung der Zuckung — wieder verschwindet, länger bestehen, und so stehen die Eiweißkörper des Muskels längere Zeit unter dem Einfluß dieser sie in ihrem kolloidalen Zustande ändernden Substanz, und die Einzelzuckung wird höher. Denn man muß die Kontraktion des Muskels als einen sekundären Prozeß auffassen; die Formveränderung entsteht und vergeht unter dem Einfluß einer plötzlich entstehenden und schnell wieder schwindenden Substanz [Frey (67)]. Unter dem Einfluß der Narkotica gehen also die resynthetisierenden Prozesse langsamer vor sich, und so versagt der Muskel bei tetanischer Reizung. Später kommt es dann zur Ausbildung einer Kontraktur, was wiederum (wie nach Coffein) für Störung der Erholung spricht. Ob bei einer schwächeren Vergiftung durch die Narkotica diese Hemmung der Erholung schon auf der Beeinträchtigung der Oxydationen beruht, welche alle Narkotica machen, welche aber allgemein als Ursache der Narkose abgelehnt wird, ist fraglich.

Das Auseinanderfallen von Milchsäurebildung und Atmung durch die Alkoholvergiftung hat Meyerhof (45) beschrieben: „In 3,5—7%iger Lösung steigert er zwar die Milchsäurebildung um 30—40%, zugleich aber wird die Atmung um 30—50% gehemmt.“ Auch bei völliger Lähmung durch die Narkotica hat Meyerhof (68) noch eine Mehrbildung von Milchsäure gefunden; auch dies spricht für eine Hemmung der Erholungsprozesse. Dabei nimmt man an, daß die Narkotica durch Belegen der Oberfläche der atmenden Strukturen die Atmung hemmen.

Versuche:

Tabelle 7.

Einfluß der Vitamine auf die Muskelnarkose.

Evipan.

Beide Muskeln in Evipan-Na 0,1%; einer unter Zusatz von Betaxin 0,1 ccm pro 50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	123	115	90	56	50	44	40 mit Betaxin
100	109	122	107	90	42	37	31 nur Evipan-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 97% mit Betaxin, 100% nur Evipan-Na.

Beide Muskeln in Evipan-Na 0,1%; einer unter Zusatz von Lactoflavin 0,1 ccm/50 ccm oder 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.
Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	125	108	67	80	54	33	37 mit Lactoflavin
100	118	106	75	67	35	60	40 nur Evipan-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 100% mit Lactoflavin, 100% nur Evipan-Na

Beide Muskeln in Evipan-Na 0,1%; einer unter Zusatz von Nikotinsäureamid 0,1% 1 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.
Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	110	61	3	mit Nikotinsäureamid
100	106	66	8	nur Evipan-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 98% mit Nikotinsäureamid, 100% nur Evipan-Na

Beide Muskeln in Evipan-Na 0,1%; einer unter Zusatz von Cantan 1,0 ccm pro 50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.
Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	117	93	33	4	0	0 mit Cantan
100	112	97	24	9	1	0 nur Evipan-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 101% mit Cantan, 100% nur Evipan-Na.

Luminal-Na.

Beide Muskeln in Luminal-Na 0,25%; einer unter Zusatz von Betaxin 0,1 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.
Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	130	130	90	43	38	27 mit Betaxin
100	136	132	123	61	70	45 nur Luminal-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 83% mit Betaxin, 100% nur Luminal-Na

Beide Muskeln in Luminal-Na 0,25% und 0,5%; einer unter Zusatz von Lactoflavin 0,1 ccm oder 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.
Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	91	70	87	30	21	6 mit Lactoflavin
100	100	82	106	23	6	12 nur Luminal-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 94% mit Lactoflavin, 100% nur Luminal-Na

Beide Muskeln in Luminal-Na 0,25%; einer unter Zusatz von Nikotinsäureamid 0,1% 1 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.
Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	126	113	99	13	0	mit Nikotinsäureamid
100	93	84	71	40	13	nur Luminal-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 110% mit Nikotinsäureamid, 100% nur Luminal-Na

Beide Muskeln in Luminal-Na 0,25%; einer unter Zusatz von Cantan 1,0 ccm pro 50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	113	110	76	34	mit Cantan
100	102	80	54	8	nur Luminla-Na

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 125% mit Cantan, 100% nur Luminal-Na

Novokain.

Beide Muskeln in Novokain 0,05% und 0,1%; einer unter Zusatz von Betaxin 0,1 ccm/50 ccm.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

Nach 5	20	30	Minuten
100	42	25	17 mit Betaxin
100	52	12	4 nur Novakin

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 108% mit Betaxin, 100% nur Novokain

Beide Muskeln in Novokain 0,05%; einer unter Zusatz von Lactoflavin 0,1 oder 0,2 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	93	77	48	39	25	8 mit Lactoflavin
100	80	67	42	30	15	8 nur Novokain

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 114% mit Lactoflavin, 100% nur Novokain

Beide Muskeln in Novokain 0,05%; einer unter Zusatz von Nikotinsäureamid 0,1% 1 ccm/50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	60	34	31	20	18	16 mit Nikotinsäureamid
100	64	56	27	23	22	19 nur Novokain

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 89% mit Nikotinsäureamid, 100% nur Novokain

Beide Muskeln in Novokain 0,05%; einer unter Zusatz von Cantan 1 ccm pro 50 ccm. Alle 5 Minuten eine Serie von Reizen.

Durchschnittliche Zuckungshöhe in Prozenten der Anfangszuckung:

100	40	14	6	mit Cantan
100	30	18	14	nur Novokain

Alle Zuckungen zusammengezählt in Prozenten der Kontrollzuckungen: 99% mit Cantan, 100% nur Novokain

Zusammenfassung: Es wurden die Stoffe: Evipan-Na, Luminal-Na und Novokain verwandt. Die Vitamine hatten keinen Einfluß auf die Muskelnarkose. Ascorbinsäure hemmt in geringem Maße die Luminalnarkose.

F. Besprechung.

Bei der Bedeutung der wasserlöslichen Vitamine als Bestandteile der oxydierenden und reduzierenden Fermente in unserem Körper fällt die geringe Wirksamkeit dieser Stoffe auf die Muskeltätigkeit auf, die sie bei Vergiftungen des Muskels ausüben. Man könnte daran denken, daß z. B. die Vergiftung mit Monojodessigsäure, welche die im Kohlehydratabbau

notwendigen Phosphorylierungen hemmt, auch die Phosphorylierung der Vitamine, z. B. des Lactoflavins, aufhebt, das ja auch zu seinem Wirksamwerden erst der Verknüpfung mit Phosphorsäure bedarf; aber dieser Einwand trifft nicht zu, Lactoflavinphosphorsäure ist ebenso unwirksam bei der Monojodessigsäurevergiftung. Und dann erweisen sich ja auch die Vitamine gegenüber anderen Muskelgiften als unwirksam, die die Phosphorylierung nicht beeinflussen.

Zunächst ist festzustellen, daß der Einfluß auf die Muskelzuckung nur außerordentlich gering ist, daß er mit Sicherheit in den meisten Fällen fehlt. Man beobachtet nur eine geringe Unterstützung der Coffeinwirkung bei der Lactoflavinphosphorsäure: es wird sowohl die fördernde Wirkung niedriger Coffeinkonzentrationen wie auch die schädigende höherer Konzentrationen auf die Muskelzuckung durch Lactoflavinphosphorsäure verstärkt; in dem Summendurchschnitt kommt dies nicht zum Ausdruck, wohl aber in den Einzelwerten, die oben angeführt wurden. Bei den Narkoticis wird Luminal in seiner narkotischen Kraft durch Ascorbinsäure etwas herabgesetzt. Im großen ganzen ist aber doch der Einfluß der Vitamine gering. Bei der NaF-Vergiftung ist das Fehlen einer Einwirkung der Vitamine verständlich, denn Fluorid hemmt nur an einer bestimmten Stelle den Kohlehydratabbau. Aber bei der Vergiftung mit Monojodessigsäure, welche die Phosphorylierungen oder die damit in irgendeiner Weise verknüpften Oxydoreduktionen hemmt, konnte ein Einfluß der Vitamine erwartet werden. Aber hier fehlt jede Beeinflussung. Das gleiche gilt für Phlorrhizin. Coffein, welches die Resynthese und die Verbrennung der Milchsäure aufhebt, also vielleicht erst eigentlich in der aeroben Phase des Kohlehydratstoffwechsels wirkt, müßte durch diese Fermente beeinflußt werden, wird es aber durch Lactoflavinphosphorsäure, soweit es sich um die Zuckungshöhen handelt. Auch beim KCN fehlt jede Einwirkung der Vitamine hinsichtlich der Kontraktion. — Dies alles scheint dafür zu sprechen, als seien die Prozesse des Kohlehydratabbaus auch in ihrer ersten Phase nicht eigentlich bestimmend für die Kontraktion selbst, sondern sie dienen der Erholung, und der Kontraktionsvorgang werde durch andere Vorgänge ausgelöst. Dann wäre die Unwirksamkeit der Vitamine auf die Zuckungshöhe verständlich.

Dafür, daß der Kohlehydratabbau nicht die eigentliche Ursache der Kontraktion ist, spricht der zweite, jetzt positive Befund. Es tritt nämlich ein Einfluß der Vitamine hervor, wenn die Muskelgifte zur Kontraktur führen. Auch hier ist ein Einfluß nur bei einzelnen Vitaminen zu beobachten, z. B. der hemmende Einfluß des Nikotinsäureamids bei der Ausbildung der Kontraktur durch Monojodessigsäure; auch durch Aneurin wird diese Kontraktur, wenn auch nur in geringem Maße, verkleinert. Es scheint so, als entstehe die Kontraktur immer dann, wenn die resynthetisierenden Prozesse gelitten haben, und hier könnte Nikotinsäureamid, und auch Aneurin helfend eingreifen. Die anderen Vitamine sind bei der Mono-

jodessigsäurekontraktur wirkungslos. Dagegen erweist sich in entgegengesetztem Sinne bei dem zweiten zur Kontraktur führenden Stoff, dem Coffein, Lactoflavinphosphorsäure und auch Aneurin wirksam: die Coffeinkontraktur wird durch Lactoflavinphosphorsäure außerordentlich, durch Aneurin weniger verstärkt. Auch der Ascorbinsäure kommt ein Einfluß zu, und zwar in beiden Richtungen, wenigstens, wenn man die Einzelwerte betrachtet, im Summendurchschnitt ergibt sich keine Veränderung. — Nun könnten die Kontrakturgifte direkt den kolloidalen Zustand der Eiweißstoffe beeinflussen — und es gibt wohl sicher derartige Kontrakturgifte —, aber sie könnten auch indirekt durch Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels eine solche Eiweißveränderung herbeiführen. Wenn wir sehen, daß manche Muskelgifte, die einen Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel haben, zu einer Kontraktur führen, und wenn wir sehen, daß einige Vitamine, von denen ebenfalls ein Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel anzunehmen ist, die Kontraktur vermindern können, so liegt die Annahme nahe, daß diese Störung des Stoffwechsels die Ursache der Kontraktur ist, daß es also Zwischenprodukte des Kohlehydratstoffwechsels sind, welche die Kontraktur auslösen, nicht aber das Muskelgift selbst. Freilich muß man wohl verschiedene Angriffspunkte der einzelnen Stoffe annehmen, z. B. bei der Jodessigsäure und beim Coffein (und auch KCN macht eine Kontraktur, wenn auch nicht in den hier angewandten Konzentrationen); es ist also fraglich, ob bei der Einwirkung derartiger Stoffe immer dieselbe spezifische Kontraktursubstanz entsteht, aber ein Zusammenhang zwischen Stoffwechselschädigung und Kontraktur liegt nahe. Jedenfalls ist es von Bedeutung, daß im Falle des Kontrakturgiftes Monojodessigsäure ein Gegengift im Nikotinsäureamid und auch im Aneurin vorliegt, daß also an zwei Beispielen gezeigt werden konnte, daß eine zur Kontraktur führende Stoffwechselveränderung durch einzelne Fermente wieder aufgehoben werden kann. Und es ist vielleicht auch wichtig, daß eine Verstärkung der Kontrakturwirkung durch die Vitamine vorkommen kann, wie im Falle der Erhöhung der Coffeinkontraktur durch Lactoflavinphosphorsäure und Aneurin.

Auf die Ermüdung in der einzelnen Reizserie hat kein Vitamin einen Einfluß gezeigt, d. h. also bei den Giften, bei denen eine solche Ermüdung auftritt, der Monojodessigsäure und dem Coffein; und zwar auch nicht die Vitamine, welche die Kontraktur deutlich beeinflussen.

G. Schlußzusammenfassung.

Über die chemischen Veränderungen im Kohlehydratstoffwechsel durch die Muskelgifte (NaF, Jodessigsäure, Phlorrhizin, Coffein und KCN) liegen zahlreiche Befunde vor; auf der anderen Seite sind die wasserlöslichen Vitamine Bausteine von Fermenten, die eine Rolle im Kohlehydratstoffwechsel spielen. Daher wurde der Einfluß der Vitamine bei derartigen

Vergiftungen untersucht. Es wurden immer beide Sartorien eines Frosches mit dem Muskelgift behandelt, das Bad des einen erhielt einen Zusatz von Vitamin. Die Muskeln lagen in demselben Stromkreis, wurden alle 5 Minuten durch eine Serie von Öffnungsschlägen gereizt und schrieben ihre Kurven übereinander. Die Zuckungshöhen, die Höhen der manchmal eintretenden Kontraktur wurden ausgemessen und in Prozenten der Anfangszuckung ausgedrückt, um einen Vergleich auch mehrerer Versuche zu gestatten; es wurden immer die Durchschnittswerte aller Versuche angegeben. Um schnell zu übersehende Zahlen zu erhalten, wurden ferner alle Zuckungen, alle Kontrakturen und alle Ermüdungen zusammengezählt und in Prozenten der Kontrollzuckungen, Kontrollkontrakturen und Kontrollermüdungen ausgedrückt. Es wurden also immer die beiden Muskeln eines Frosches miteinander verglichen. Die Fehlergrenzen bei diesen Versuchen sind schwer abzuschätzen, sie wurden sehr hoch angesetzt und als tatsächlich nur Abweichungen über 20 % angesehen. Wo ein Einfluß des Vitamins fehlt, liegen die Zahlen überraschend beieinander (z. B. 104 oder 98 % gegen 100 % der Kontrolle).

Tabelle 8.

Summe der Zuckungshöhen, der Kontrakturen und der Ermüdungen in Prozenten der Kontrollen (also diese = 100 % gesetzt).

	NNR	B_1	B_2	B_2-Phosphorsäure	Nikotinsäureamid	C	Adenosintriphosphorsäure
NaF:							
Zuckung		102	102		101	96	
Ermüdung		99	96		95	105	
Jodessigsäure:							
Zuckung	99	95	93	97	103	103	92
Kontraktur	84	77	104	115	61	81	106
Jodessigsäure + NNR:							
Zuckung	99	73	89		95		
Kontraktur	84	89	126		99		
Phlorrhizin:							
Zuckung	101	83	97	102	87	91	
Coffein:							
Zuckung		98	102	108	101	101	
Kontraktur		121	85	217	90	104	
Ermüdung		103	99	85	98	101	
KCN:							
Zuckung		113	73	116	98	110	
Evipan:							
Zuckung		97	100		98	101	
Luminal:							
Zuckung		83	94		110	125	
Novokain:							
Zuckung		108	114		89	99	

Auf die Zuckung haben die Vitamine keinen Einfluß bei den verschiedenen Muskelgiften gezeigt. Die Lactoflavinphosphorsäure hat in geringem Grade sowohl die fördernde wie auch die lähmende Wirkung des Coffeins verstärkt, wie aus den Einzelzahlen hervorgeht.

Dagegen haben manche Vitamine auf die Kontraktur einen Einfluß, die sich nach einzelnen Muskelgiften ausbildet. So hemmt Nikotinsäureamid und auch Aneurin die Kontraktur durch Monojodessigsäure; die Coffeinkontraktur wird durch Lactoflavinphosphorsäure außerordentlich, durch Aneurin etwas verstärkt.

Auf die Ermüdung in der einzelnen Reizserie haben die Vitamine keinen Einfluß.

Der Einfluß der Vitamine betrifft also nicht die Zuckung, sondern nur die Kontraktur (wo eine solche eintritt). Man könnte daraus schließen, daß Zuckung und Kontraktur zwei verschiedene Vorgänge sind.

Literatur.

1) Deuticke: Vortr. med. Ges. Göttingen 1941. — 2) Deuticke: Verh. d. Naturf. u. Arzte, Düsseldorf 1926, n. Ber. Physiol. **38**, 157 (1927). — 3) Deuticke: Pflügers Arch. **224**, 1 (1930). — 4) Embden: Sterben u. Ermüdung. Klin. Wschr. **1929**, S. 913. — 5) Embden: Ebenda **1927**, S. 628. — 6) Lundsgaard: Biochem. Z. **217**, 162 (1930). — 7) v. Muralt: Erg. Physiol. usw. **37**, 468 (1935). — 8) v. Baeyer: Klin. Wschr. **1933**, S. 1278. — 9) Meyerhof u. Kiessling: Biochem. Z. **264**, 40 (1933). — 10) Kollath: Erg. Physiol. usw. **41**, 853 (1939). — 11) Lehnhartz: Einf. i. d. chem. Physiol., Berlin 1937. — 12) Embden, Deuticke u. Kraft: Klin. Wschr. **1933**, S. 213. — 13) Verzár: Die Funktion der Nebennierenrinde, Basel 1939. — 14) Lohmann u. Schuster: Biochem. Z. **294**, 188 (1937). 15) Johnson: Ebenda **30**, 31 (1936). — 16) Peters u. Sinclair: Arch. exper. Zellforsch. **15**, 59 (1934), n. Jber. Physiol. **1934**, S. 340. — 17) Peters u. Thompson: J. Physiol. (Brit.) **81**, 22 (1934), n. Ber. Physiol. **80**, 582. — 18) Shindo: Hoppe-Seylers Z. **247**, III (1937). — 19) Nylin, v. Euler u. Högberg: Klin. Wschr. **1940**, S. 433. — 20) Peters u. Thompson: Biochem. J. **28**, 916 (1934). — 21) Passamore, Peters u. Sinclair: Ebenda **27**, 842 (1933). — 22) Rohr: Hoppe-Seylers Z. **129**, 248 (1924). — 23) Hess u. Takahashi: Biochem. Z. **122**, 193 (1921). — 24) Hess: Dtsch. med. Wschr. **1924**, S. 163. — 25) Hess: Hoppe-Seylers Z. **117**, 284 (1921). — 26) Lajos: Biochem. Z. **284**, 280 (1936). — 27) Tislowitz: Klin. Wschr. **1937**, S. 226. — 28) Lewinson: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **6**, 209 (1937). — 29) Zambotti: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **14**, 370 (1939), n. Ber. Physiol. **117**, 174 (1940). — 30) Zambotti u. Ferrante: Ebenda **14**, 372 (1939), n. Ber. Physiol. **117**, 174 (1940). — 31) Göbel: Klin. Wschr. **1940**, S. 710 u. 832. — 32) v. Tappeiner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **25**, 311 (1889). — 33) Embden, Abraham u. Lange: Hoppe-Seylers Z. **136**, 308 (1924). — 34) Embden u. Hentschel: Biochem. Z. **156**, 343 (1925). — 35) Embden u. Zimmermann: Verh. d. Naturf. u. Arzte, Düsseldorf 1926, n. Ber. Physiol. **38**, 156 (1927). — 36) Embden u. Lehnhartz: Hoppe-Seylers Z. **134**, 234 (1924). — 37) Lipmann: Biochem. Z. **196**, 3 (1928). — 38) Lohmann: Ebenda **222**, 324 (1930). — 39) Meyerhof: Ebenda **267**, 313 (1933). — 40) Meyerhof u. Kiessling: Ebenda **281**, 249 (1935). — 41) Embden, Deuticke u. Kraft: Hoppe-Seylers Z. **230**, 12 (1934). — 42) Lehnhartz: Ebenda **230**, 90 (1934). — 43) Embden u. Ickes: Ebenda **230**, 63 (1934). — 44) Embden u. Deuticke: Ebenda **230**, 50 (1934). — 45) Meyerhof: Pflügers Arch. **188**, 114 (1921). — 46) Haarmann: Ebenda **256**, 350 (1932). — 47) Druckrey:

Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 165 (1940). — 48) Deuticke: Hoppe-Seylers Z. **141**, 196 (1924). — 49) K. Meyer: Biochem. Z. **183**, 216 (1927). — 50) Meyerhof: Erg. Physiol. usw. **39**, 55 (1937). — 51) Wilbrandt u. Laszt: Biochem. Z. **259**, 398 (1933). — 52) Meyerhof: Naturw. **20**, 977 (1932). — 53) Lundsgaard: Biochem. Z. **264**, 209 (1933). — 54) Liljestrand u. Lundsgaard: Skand. Arch. Physiol. **83**, 121 (1939), n. Ber. Physiol. **117**, 657 (1940). — 55) Wetzel u. v. Zitzewitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 192 (1937). — 56) Wetzel: Klin. Wschr. **1941**, S. 494. — 58) Riesser u. Neuschlosz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **93**, 163 (1922). — 57) Dreser: Ebenda **27**, 50 (1890). — 59) v. Fürth: Pflügers Arch. **37**, 387 (1896). — 60) Jacobj u. Golowinski: Naunyn-Schmiedebergs Arch., Suppl.-Bd., S. 286, (1908). — 61) v. Fürth u. Schwarz: Pflügers Arch. **129**, 533 (1909). — 62) Seches: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **77**, 83 (1914). — 63) Riesser u. Simonson: Hdbch. d. n. u. p. Physiol., Bd. VIII/1, 360 (1925). — 64) Houben: Fortschr. Heilchem. **1**, 697—753 (1930). — 65) Wilbrandt u. Laszt, Biochem. Z. **256**, 398 (1933). — 66) Frey: Dtsch. med. Wschr. **48**, 184 (1922); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **98**, 21 (1923; **191**, 621 (1939). — 67) Frey: Pflügers Arch. **184**, 157 (1920). — 68) Meyerhof: Ebenda **191**, 138 (1921).

Aus der Universitätsklinik, Würzburg. (Leitung: Prof. Dr. H. Rietschel.)

Die Wirkung des Nikotinsäureamids auf die durch Kobaltsulfat erzeugte Polyglobulie beim Kaninchen.

Von

O. Göbell und **H. Lang.**

(Eingegangen am 24. Juni 1941.)

Polyglobulie ist ein Symptom bei verschiedenen Krankheitszuständen, die das Gemeinsame haben, daß die Sauerstoffzufuhr in irgendeiner Weise gestört ist, sei es mechanisch bei herabgesetztem Sauerstoffdruck oder die Luftzufuhr behindernden Veränderungen der Luftwege, oder durch toxische Schädigung des Sauerstoff aufnehmenden Hämoglobins, wie z. B. bei der chronischen CO-Vergiftung. Klinisch wird von der durch bekannte Agentien erzeugten Polyglobulie die essentielle Polycythämia vera unterschieden, deren Ursache unbekannt ist.

Der eine von uns (1) konnte bei einem Kinde mit einer Polycythämia vera ebenso wie bei durch Vitrium congenitum bedingten Polyglobulien sowohl beim Stundenversuch, wie bei täglicher Gabe mit Nebennierenrindenextrakt und in gleicher Weise durch Nikotinsäureamid eine Senkung der Erythrocytenzahl für die Wirkungsdauer der Gabe erreichen.

Zu diesen therapeutischen Versuchen führte uns der folgende Gedankengang: Die Erythrocyten dienen der Atmung durch Aufnahme und Transport des Sauerstoffs in die Gewebe. Die Zellatmung besteht in der Vereinigung des vom Substrat abgespaltenen Wasserstoffs mit dem Sauerstoff, nachdem der Wasserstoff über eine Reihe von Redoxsystemen gewandert ist. Wir hatten uns vorgestellt, daß die Erythrocyten entsprechend den Anforderungen, die an sie als Sauerstofftransportmittel gestellt werden, produziert und in Umlauf gesetzt werden. Ist die Zellatmung herabgesetzt durch Störung in der Funktion der Dehydrasesysteme, so wird wenig Sauerstoff benötigt und es sind weniger Erythrocyten im Umlauf. Umgekehrt wird bei irgendeiner Behinderung der Sauerstoffaufnahme durch die Erythrocyten (Herzinsuffizienz, Pneumothorax, Höhenluft, CO-Vergiftung) die resorbierende Oberfläche durch Erhöhung der Erythrocytenzahl vergrößert. Wird nun durch Aktivierung des Atemfermentsystems der Wasserstoff-Sauerstoffaustausch beschleunigt, so erübrigt sich die Regulationsmaßnahme des Organismus und die Erythrocyten sinken ab.

Wir fragen uns nun, ob auch die durch toxische Einflüsse bedingte Polyglobulie auf Nikotinsäureamid anspricht. Bekanntlich lassen sich durch Schwermetalle Polyglobulien erzeugen. Wir wählten das relativ ungiftigste, aber in dieser Hinsicht doch wirksame Schwermetall, das

Kobalt. Wir erzeugten bei Kaninchen durch tägliche Injektion von 0,01 g Kobaltsulfat eine Polyglobulie. Wir untersuchten danach, ob die so entstandene Polyglobulie durch Zugabe von Nikotinsäureamid im Sofortversuch beeinflußbar ist, ferner ob die entstandene Polyglobulie durch Zugabe von täglich 30 mg Nikotinsäureamid zu mindern ist. Schließlich untersuchten wir das Verhalten der Erythrocyten nach täglicher gleichzeitiger Gabe von Nikotinsäureamid und Kobaltsulfat in einer Dosis von 0,01 g bzw. 30 mg beim Normaltier.

1. Wir erzeugten also bei zwei Kaninchen durch tägliche Injektion von 0,01 g Kobaltsulfat eine Polyglobulie. Die Ausgangswerte der Erythrocyten lagen bei 5.2 Millionen bei beiden Tieren. Nach 10 Tagen waren die Erythrocyten bei dem einen Tier auf 6,9, bei dem anderen auf 7,1 Millionen gestiegen. Wir gaben nun beiden Tieren 30 mg Nikotinsäureamid (NSA.) subcutan und verfolgten danach die Erythrocytenzahl im Stundenversuch. Nach einigen Tagen, während derer weiter Kobaltsulfat gegeben wurde, wiederholten wir den Versuch bei denselben Tieren (Nr. 3 und 4). (Tabelle 1) Es zeigte sich, daß in allen Versuchen die roten Blutkörperchen absanken.

Tabelle 1. Verhalten der Erythrocyten bei durch Kobaltsulfat erzeugter Polyglobulie nach 30 mg Nikotinsäureamid im Stundenversuch.

Nr.	0	1	2	3	24 Stunden
1	7,1	6,9	6,5	6,2	6,8 Millionen
2	6,9	6,4	6,3	5,7	6,6 „
3	6,8	6,3	5,5	5,5	6,4 „
4	6,7	6,3	6,1	6,2	6,6 „

Die beobachtete Senkung ist selbstverständlich nicht auf einen Untergang von Erythrocyten zurückzuführen. Wir nehmen vielmehr an, daß für die Dauer der Wirksamkeit des Nikotinsäureamids die Erythrocyten zum Teil aus dem strömenden Blut in die Depots abwandern.

2. Anschließend an diese Versuche verwandten wir dieselben Tiere zur Untersuchung der Frage, ob durch NSA. eine durch Kobaltsulfat erzeugte Polyglobulie beeinflußbar ist. Wir gaben zu diesem Zweck denselben Tieren, die also durch vorherige tägliche Injektionen des Schwermetalls eine Polyglobulie von 6,9 bzw. 7,1 Millionen Erythrocyten bekommen hatten, zu dem Kobalt täglich 30 mg NSA. s. c. hinzu und verfolgten in zweitägigen Abständen die Erythrocytenzahl (Tabelle 2).

Es zeigte sich, daß kein merklicher Einfluß zu beobachten war.

Tabelle 2. Erythrocytenzahl bei Polyglobulietieren nach täglicher Injektion von 0,01 g Kobaltsulfat + 30 mg Nikotinsäureamid.

Nr.	0	2	4	6	8	10 Tage
1	6,8	7,0	6,7	6,9	6,8	7,0 Millionen Erythrocyten
2	6,5	6,4	7,0	6,6	6,7	6,5 „
3	6,7	6,2	6,4	6,3	6,2	6,3 „
Kontrolltier	6,6	6,7	6,5	6,6	6,7	6,7 „

3. Von Interesse war uns vor allem die Beantwortung der dritten Frage, nämlich die Wirkung gleichzeitiger Gabe von Kobaltsulfat und NSA. bei Normaltieren. Als Versuchsdauer wählten wir wieder 10 Tage. In dieser Zeit war bei den Vergleichstieren eine Polyglobulie sicher entstanden. Wir gaben also bei Normaltieren, die noch zu keinem Versuch gedient hatten, täglich 0,01 g Kobaltsulfat + 30 mg NSA. Unter dieser Versuchsanordnung wurde, wie die Tabelle 3 zeigt, der Anstieg der Erythrocyten verhindert.

Tabelle 3. Erythrocyten bei täglicher Injektion von 0,01 g Kobaltsulfat + 40 mg Nikotinsäureamid beim Normaltier.

Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 Tage
1	5,4		5,4			4,9		5,0		5,0	5,0
2	5,2		5,2			4,9		5,0		5,1	4,8
3	5,2	4,8	5,2	5,7		5,4		5,6			5,5
4	4,4	4,3	3,6	3,6		4,5		4,8		4,3	5,0

Diskussion.

Man darf annehmen, daß die durch Kobalt erzeugte Polyglobulie eine echte Polyglobulie ist. Das Knochenmark zeigt eine deutliche Hyperaktivität. Auch das Fehlen größerer Leukocytenschwankungen spricht gegen eine Bluteindickung. Der hämopoetische Apparat zeigt weitgehende Parallelität zur Polycythämie des Menschen. Über die Art, wie diese Kobaltpolyglobulie zustande kommt, ist nichts Sicheres bekannt, im Schrifttum werden nur Vermutungen ausgesprochen. Hier interessiert, was über die Beziehungen der Wirkstoffe zu den Störungen der Hämopoese durch Schwermetalle bekannt ist.

Es gelang Marshall (5) bei Ratten, bei denen er durch Zusatz von Kobalt, Eisen, Kupfer und Mangan zur Milchdiät eine Polyglobulie erzeugt hatte, durch Leberextrakt die Zahl der roten Blutkörperchen zu senken. Barron und Barron (4) verhüteten durch Vitamin C bei gleichzeitiger Gabe die Kobaltpolyglobulie. Bei bereits erzeugter Polyglobulie konnten sie nur eine vorübergehende Senkung der Erythrocytenzahl erreichen. Er schreibt dem Vitamin C eine regulierende Rolle für die Zahl der zirkulierenden Erythrocyten zu. Die beiden Autoren hatten also mit C denselben Erfolg wie wir mit Nikotinsäureamid. Davis (3) konnte die Kobaltpolyglobulie sowie die durch Tretmühlenlauf erzeugte gleichfalls mit Leberextrakt verhüten. Er denkt dabei daran, daß die Leber ein Hormon enthält, das die Knochenmarkstätigkeit hemmt. Vanotti (9) führt Störungen im Porphyrinumsatz auf gewisse Störungen derjenigen Porphyrin-Eisen-Komplexe der Zelle zurück, die am Atemvorgang beteiligt sind. Hier könnte das B_2 als Co-Ferment des gelben Atemferments eine wesentliche Rolle bei der Erhaltung der cellulären Oxydationen spielen. Schneider (10) bestätigt diese Hypothese an Hand von Hefekulturen. Er konnte durch

Zusatz von Cyankali eine starke Vermehrung des Porphyrins in der Kultur feststellen, die aber ausblieb, wenn er B_2 hinzufügte. Lang (11) konnte bei der experimentellen B_2-Avitaminose beim Menschen erhöhte Porphyrinurie feststellen, die auf B_1-Zusatz verschwand.

Bei der Pellagra, die durch Mangel an Nikotinsäureamid bedingt ist, wurde auch Porphyrinurie gefunden, die nach Zugabe von NSA. zu beheben war. Aber auch die durch Sulfonamid (14), Barbitursäure, sowie Bleivergiftung bedingten Porphyrinurien lassen sich durch NSA. beseitigen (12, 13). Es ergibt sich also, daß auch die durch das Schwermetall Blei entstandene Störung der Hämopoese, bei der im Anfangsstadium auch eine Polyglobulie beobachtet wird, der NSA.-Therapie zugänglich ist.

Über die Art, wie das NSA. auf den Schwermetallstoffwechsel und den Porphyrin-Eisenstoffwechsel wirkt, lassen sich einstweilen nur Theorien aufstellen. Wir wissen nur, daß erhöhte Eisenausscheidung und Porphyrinurie prompt nach NSA. verschwinden. Aber der Mechanismus der Wirkung ist nicht genug geklärt. Jung (15) nimmt an, daß die Störung die Folge des Versagens der Elektronenübertragung ist, die mit der Wasserstoffübertragung gekoppelt ist.

Als Nutzanwendung aus unseren Versuchen ergibt sich, wie schon die Behandlungserfolge der Bleivergiftung mit NSA. zeigen, die Möglichkeit, die Schwermetallvergiftungen prophylaktisch und therapeutisch mit NSA. anzugehen.

Zusammenfassung.

Durch tägliche Gabe von Kobaltsulfat wurde bei Kaninchen eine Polyglobulie erzeugt. Durch einmalige Injektion von Nikotinsäureamid (Nikobion) senkte sich die Erythrocytenzahl im Stundenversuch. Dagegen hatten tägliche Gaben von Nikotinsäureamid auf die durch Kobaltsulfat erzeugte Polyglobulie keinen Einfluß.

Wurde beim Normaltier gleichzeitig Kobaltsulfat und Nikotinsäureamid gegeben, so konnte das Entstehen der Polyglobulie verhindert werden. Durch die Kriegsumstände bedingt stand uns nur eine kleine Zahl von Versuchstieren zur Verfügung.

Schrifttum.

1) Göbell: Z. Kinderhk. **61**, 423. — 2) Ortner: Zit. bei Marshall: Amer. J. Physiol. **114**. — 3) Davis: Ebenda **122**, 397. — 4) Barron u. Barron: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **35**, 407. — 5) Marshall: Amer. J. Physiol. **114**. — 6) Berwald: Zit. bei Marshall. — 7) Nägeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. — 8) Carnot u. Deflandre: Zit. bei Marshall. — 9) Vanotti: Klin. Wschr. **1941**. S. 113. — 10) Schneider: Diss. med. Lausanne 1940. — 11) Lang: Di s. med. Lausanne 1940. — 12) Boulin, Justin, Besancon, Nepreux, Geffroy: Boll. soc. med. Hop. Paris **55**, 474 (1939). — 13) Caccuri: Fol. med. Napoli **26**, 345 (1940). — 14) Spies u. Bean: J. clin. Invest. (Am.) **17**, 504 (1938). — 15) Jung: Beiheft 1 zur Zeitschrift für Vitaminforschung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Ein einfacher Ordinatenschreiber*.

Von

Hermann Druckrey und **Hans Uhlig.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Mai 1941.)

Der Fortschritt der Forschung ist von den zur Verfügung stehenden Methoden und dem Umfang ihrer Anwendbarkeit abhängig. Vorgänge, die leicht feststellbar und leicht meßbar sind, sind demgemäß genauer erforscht, als solche, die nur schwer oder gar nicht messend verfolgt werden können. Das hat oft eine Überwertung der ersteren und Unterschätzung der letzteren zur Folge. So hat auch das Fehlen einer genügend einfachen Methode zur Registrierung von Frequenzen auf der Ordinate (Ordinatenschreiber) notwendigerweise zu einem Zurückbleiben unserer Kenntnis von solchen Vorgängen gegenüber anderen, leicht meßbaren geführt. Die pharmakologische Beeinflussung der Herzfrequenz ist z. B. weit weniger genau durchforscht, als die der Herzamplitude. So mag der Versuch, einen geeigneten Ordinatenschreiber zu entwickeln, verständlich sein.

Bisher sind drei Anordnungen dieser Art bekannt. Der Impulszähler von Junkmann[1] hat den Vorteil großer Einfachheit, er ist jedoch für genauere Messungen nicht geeignet. Der Ordinatenschreiber von Fleisch[2] arbeitet zwar genauer, ist aber so umfangreich und kompliziert, daß er noch nicht als befriedigende Lösung angesehen werden kann. Auch das kürzlich von Lullies[3] angegebene Gerät, bei dem die allmähliche Aufladung von Kondensatoren und deren Entladung benutzt wird, hat trotz der Genauigkeit und des großen Anpassungsvermögens eines solchen, rein elektrischen Verfahrens doch wegen seiner großen Kompliziertheit und Kostspieligkeit eine nur beschränkte Anwendungsmöglichkeit.

Es kam für uns darauf an, ein möglichst einfaches, zuverlässiges und billig herzustellendes Gerät zu entwickeln, das bei möglichst genauer und geräuschloser Arbeitsweise so wenig Platz einnimmt, daß zwei oder gar drei solcher Ordinatenschreiber zur gleichzeitigen Registrierung an einem Kymographion benutzt werden können. Wegen der gewünschten Einfachheit kam nur ein mechanisches Verfahren in Frage. Die Schwierigkeit bei diesen liegt vor allem darin, die Anordnung so zu treffen, daß der

---

* Anfertigung durch den Mechanikermeister des Instituts H. Uhlig, Berlin NW 7, Dorotheenstr. 28.

[1] Junkmann, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **120**, 314 (1927). — [2] Fleisch, A.: Z. exper. Med. **72**, 384 (1930). — [3] Lullies, H.: Pflügers Arch. **241**, 354 (1938).

Schreiber bei jedem Impuls mit möglichst kleinem Zeitverlust ausgekuppelt wird, sicher zum Fußpunkt durchfällt und sofort wieder eingekuppelt wird. Meist ist die Dauer der Impulse, z. B. der Kontakte von fallenden Tropfen zu kurz, um die Kupplung bis zum vollständigen Fallen des Schreibers offenzuhalten. Deshalb muß eine Einrichtung vorhanden sein, die das vollständige Fallen des Schreibers gewährleistet. Diese kann in einer konstanten Verlängerung der Impuls- bzw. Kontaktdauer bestehen. Da der dadurch bedingte Fehler ebenfalls konstant ist, kann er durch eine Korrekturabszisse ausgeglichen werden (Fleisch). Die Apparatur wird dadurch jedoch komplizierter. Um die für das Fallen des Schreibers notwendige Zeit möglichst kurz zu halten, haben wir uns von Anfang an bemüht,

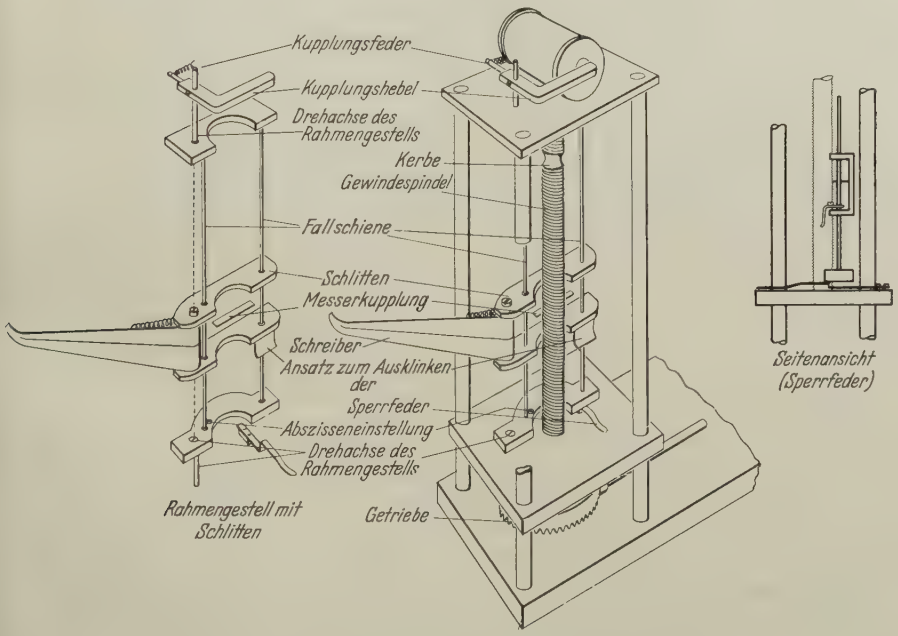


Abb. 1. Ordinatenschreiber, $^1/_2$ natürlicher Größe.

den Schreiber unmittelbar an den Antrieb zu kuppeln und vor allem auf eine Kraftübertragung durch Rollen und Schnurscheiben zu verzichten, denn das Anlaufen einer Drehbewegung erfordert besonders bei Richtungswechsel viel mehr Zeit, als der freie Fall in der Senkrechten.

Das nach diesen Gesichtspunkten entwickelte Gerät ist sehr einfach (Abb. 1). Von einem Synchronmotor wird über ein — auf verschiedene Geschwindigkeiten schaltbares — Getriebe eine senkrecht gelagerte Gewindespindel mit 0,5 mm Steigung angetrieben. Parallel zu dieser Spindel ist ein rahmenartiges Gestell angebracht, das aus zwei parallelen Stahlstäben besteht, die oben und unten in feste, die Gewindespindel

etwas umgreifende Metallbügel eingelassen sind. Die Stahlstäbe dienen als Schienen für einen leicht beweglichen Schlitten, der den Schreiber trägt. Der Schlitten greift mit einem messerartigen Mitnehmer in die Züge der Gewindespindel ein, wird also bei Drehung der Spindel nach oben mitgenommen. Das Rahmengestell, das den Schlitten trägt, ist in einer senkrechten Achse derart drehbar angebracht, daß es auf die Gewindespindel zu bzw. von dieser abgeschwenkt werden kann, wodurch die Ein- und Auskupplung des Schlittens erfolgt. Eine Feder drückt den Rahmen mit dem Schlitten dauernd gegen die Spindel, so daß unter diesen Umständen der Schlitten stets aufwärts mitgenommen wird.

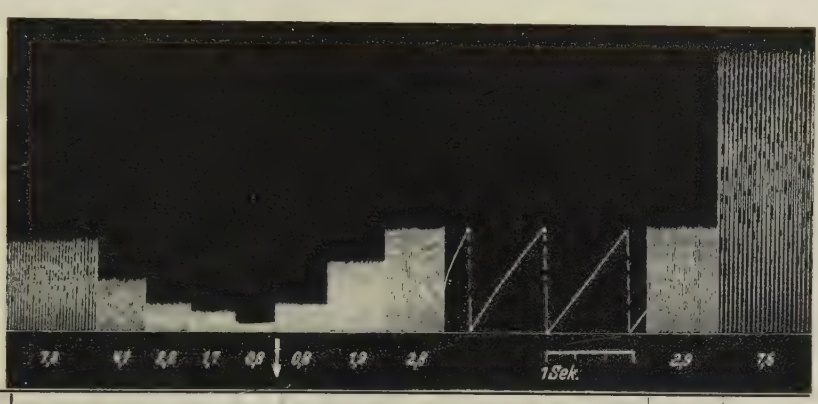
Ein einfacher Magnet, der bei Kontakt (z. B. Tropfenfall) kurz unter Strom gesetzt wird, wirkt über einen entsprechend an der Achse des Rahmengestells angebrachten Eisenbügel dem Federzug entgegen, drückt also das Rahmengestell mit dem Schlitten von der Gewindespindel ab und kuppelt so den Schlitten aus. Dabei gleitet der untere Metallbügel des Rahmengestells über eine an der Grundplatte angebrachte Sperrfeder, die einschnappt und den Bügel zurückhält, bis eine unten am Schlitten angebrachte Nocke die Sperrfeder wieder auslöst. Der Schlitten wird also erst in dem Augenblick wieder eingekuppelt, in dem er den Fußpunkt erreicht. Damit sind Fehlleistungen unmöglich.

Um das Steigen des Schlittens bei längerem Ausbleiben eines Kontaktes zu begrenzen, ist die Gewindespindel in bestimmter Höhe ringförmig gekerbt, so daß der Schlitten hier stehen bleibt, bis ein Kontakt das Herunterfallen bewirkt. Die Größe der Pause zwischen zwei Impulsen kann hier auf der Abszisse abgemessen werden. Die Konstanz der Fußpunkte wird dadurch erreicht, daß auf der Oberseite des unteren Metallbügels genau senkrecht unter dem Schwerpunkt des Schlittens eine Schraube angebracht ist, auf die der Schlitten fällt. Um ein weiteres Verwackeln der Fußpunkte zu verhindern ist der Schreiber kurz und flach dreieckförmig, aus dünnem Bronzeblech gefertigt. Seine Achse ist in Spitzen gelagert. Sie liegt im übrigen genau in der verlängerten Drehachse des Rahmengestells, ist also von dessen Bewegungen unabhängig.

Die Steigung des Gewindes auf der Spindel beträgt 0,5 mm. Der Schlitten steigt also bei jeder Umdrehung der Spindel um einen halben Millimeter. Die Übersetzungen des Getriebes können beliebig gehalten werden z. B. so, daß in jeder Sekunde eine Steigung von genau 2 bzw. 6 mm erfolgt. Da der Antrieb durch einen Synchronmotor erfolgt, ist die Genauigkeit eine praktisch absolute. Es kann also die Zeit von Impuls zu Impuls aus der Höhe der Kurven unmittelbar abgemessen werden.

Da der messerförmige Mitnehmer beim Einkuppeln am Fußpunkt nicht immer genau auf einen Gewindezug trifft, sondern je nach der augenblicklichen Stellung der Spindel bis zu einer halben Steigung des Gewindes höher oder tiefer auftreffen kann und demgemäß auch eine halbe Umdrehung zu früh oder zu spät mitgenommen wird, ergibt sich ein Fehler von

± 0,25 mm, entsprechend 0,125 bzw. ± 0,042 Sekunde, bei den angegebenen Daten für das Getriebe und das Gewinde auf der Spindel. Da jedoch – namentlich bei den kleinen Steighöhen – nie die einzelne Steigung für sich betrachtet wird, sondern hier sogar „Wischkurven" aus vielen Einzelsteigungen gemacht werden, können aus der Breite der Wischkurven ohnehin die Mittelwerte unschwer gewonnen werden (Abb. 2) bzw. ergeben sie sich von selbst.



Steigung in mm pro Sekunde		2	2	2	2	2	6	6	6	6	6	6
Steighöhe	berechnet	14,6	8,2	4,4	3,4	1,6	4,8	11,4	16,8		17,4	45,6
	gemessen	14,6	8,2	4,4	3,4	1,5	4,7	11,3	16,8		17,3	45,5
Differenz in mm		0	0	0	0	−0,1	−0,1	−0,1	0		−0,1	−0,1

Abb. 2. Prüfung des Ordinatenschreibers mit fallenden Tropfen.

Wichtiger ist die Frage, ob das Fallen des Schlittens beim Auskuppeln und der Wiederanstieg nach dem Einkuppeln ohne Verzögerung erfolgen. Wir haben diese Frage am schnellaufenden Kymographion geprüft. Die Kurve in der Abb. 2 zeigt, daß die Kopf- und Fußpunkte scharfe Spitzen bilden, daß also das Auskuppeln und das Wiedereinkuppeln momentan erfolgte. Die Zeit, die der Schlitten für den größten Fallweg von 80 mm einschließlich Ein- und Auskuppeln benötigte, wurde mit höchstens 0,15 Sekunde aus Kurven am schnellaufenden Kymographion bestimmt. Die Fallgeschwindigkeit für die kleineren Steighöhen läßt sich danach größenordnungsmäßig schätzen. Die Genauigkeit des Gerätes ist also sehr groß.

Die Abb. 2 zeigt Modellversuche mit Tropfenkontakten. Eine genügend genaue Kontaktuhr mit entsprechend kurzdauernden Kontakten stand leider nicht zur Verfügung. Die Tropfen wurden aus einer Mariotteschen Flasche mit dosierter Frequenz fallen gelassen. Die Zeitdauer des Fallens von je 10 Tropfen wurde gestoppt und daraus der Sollwert für die Steighöhe (für das gültige Übersetzungsverhältnis) berechnet. Dann wurde nach dem Fixieren der Kurven die tatsächliche Steighöhe mit dem Meß-

zirkel ausgemessen. Die Ungleichmäßigkeit der Kopfpunkte ist durch die Ungleichmäßigkeit des Tropfenfalls bedingt. Unter der Kurve in der Abb. 2 sind die Sollwerte den gemessenen Werten gegenübergestellt. Die beobachteten Differenzen schwanken zwischen 0 und 0,1 mm.

Zum Schluß sei noch kurz eine bewährte Abänderung des von Gröber[4] angegebenen Tropfenkontaktes erwähnt, bei der ein Kurzschluß durch Hängenbleiben des Tropfens im Kontakt unmöglich ist. Das wird dadurch erreicht, daß an jedem der beiden gegenüberstehenden Pole des Tropfenkontaktes ein dünner Platindraht angelötet wird. Beide Drähte werden senkrecht nach unten gebogen. Einer von ihnen ist um 0,5 cm länger als der andere, so daß der fallende Tropfen bis zum Ende des längeren Drahtes durchgleitet und von hier, außerhalb der Reichweite des anderen Drahtes, abtropft. So arbeitet der Kontakt völlig fehlerlos.

[4] Gröber, A.: Z. biol. Technik u. Methodik **2**, 148 (1912).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Weitere Untersuchungen über die Coffeinstarre am ausgeschnittenen Muskel des Frosches.

Von

W. Straub und **R. Domenjoz.**

Mit 6 Textabbildungen (11 Einzelbildern).

(Eingegangen am 17. Juni 1941.)

In einer früheren Arbeit wurde untersucht[1], wie man die bekannte Coffeinstarre am Froschmuskel zu einer pharmakologischen Meßmethode für Coffein verwerten kann. Nunmehr sollen einige Besonderheiten der Methode mitgeteilt werden.

1. Mechanische Leistung der Coffeinkontraktur.

Zunächst wurde die Arbeitsleistung des Muskels bei der Coffeinkontraktur mit der des normalen Muskels verglichen. Die Muskeln wurden durch steigende Gewichte in verschiedene Grade von Spannung versetzt, und jeweils 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm injiziert. In der früheren Arbeit[1] stellten wir nämlich fest, daß 0,15 mg Coffein ungefähr die Grenzdosis von Coffein ist, nach deren Injektion der Muskel in eine Kontraktur verfällt, die an Höhe nahezu gleich ist der durch einen tetanisierenden Strom bei direkter Reizung erzielten. Die Belastung war bei diesen Versuchen stets 20 g. Es ergab sich nunmehr (Fig. 1 A), daß der Muskel schon gegen eine Belastung von 50 g bei der gleichen Dosis von Coffein sich nicht mehr maximal kontrahiert. Bei sukzessiver Steigerung der Belastung wurden die in Abb. 1 A festgestellten Kontrakturwerte ermittelt, d. h. mit 20 g Belastung hebt der Muskel unter Wirkung von 0,15 mg Coffein noch mit 96 % Kontraktur, bei 50 g bloß mehr mit 41 % Kontraktur, bei 100 g Belastung versagt er völlig. Steigert man andererseits die Coffeindosis auf das Doppelte (Abb. 1 B), so wird der Spannungswert der Kontraktur vergrößert, d. h. noch bei 50 g Belastung ist die Kontraktur fast maximal, bei 100 g ist die Kontrakturwirkung dagegen kaum mehr vorhanden (19 %). Daraus ergibt sich also, daß die in der früheren Untersuchung gewählte Belastung des Muskels mit 20 g für 0,15 mg Coffein tatsächlich die optimale ist für den vorliegenden Zweck.

Da der normale Muskel unter Einzelreizen das Maximum seiner Arbeitsleistung erst bei 400 g Belastung erreicht, und außerdem die isometrische

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 457 (1941).

Spannung des gleichen Muskels unter tetanisierenden Reizen mehr als 1 kg betragen kann, muß der kontraktorische Effekt des Coffeins als ein sehr geringer angesehen werden.

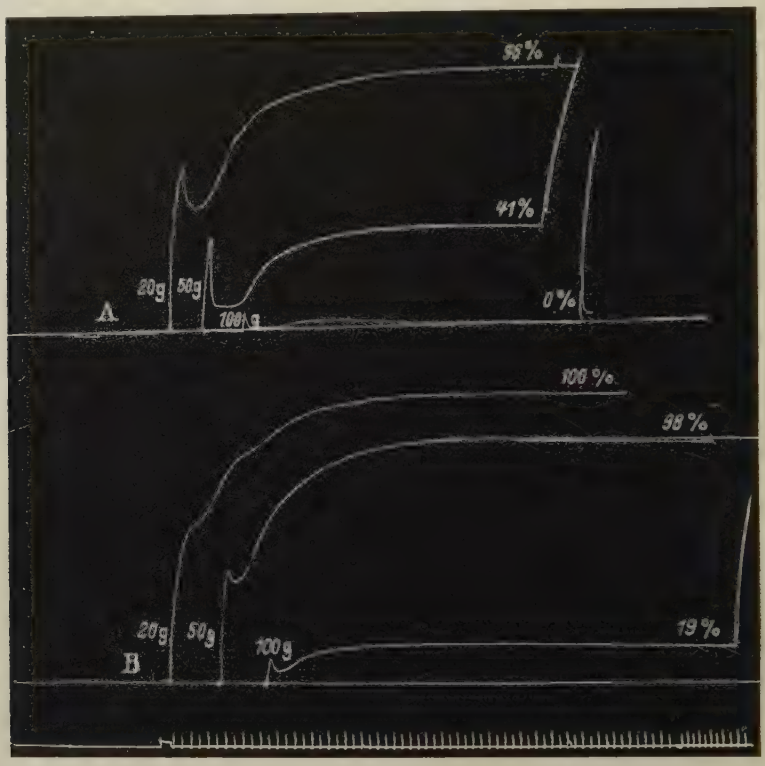


Abb. 1.
A. Kontraktur durch jeweils 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung bei steigender Belastung.
B. Dasselbe mit 0,3 mg Coffein.

2. Einfluß osmotischer Umstände.

Rechnet man den Gastrocnemius zu 0,5 g mittleres Gewicht und injiziert 0,1 ccm destilliertes Wasser, so wird die Konzentration seines Salzgehaltes entsprechend niedriger. Auf die Kontraktilität und Arbeitsleistung des normalen Muskels hat dies noch wenig Einfluß. Die Entwicklung der Coffeinstarre dagegen wird schon merklich beeinflußt. Abb. 2 A, obere Kurve, zeigt die maximale Wirksamkeit von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, die untere Kurve die Wirkung von 0,15 mg Coffein, gelöst in 0,1 ccm destilliertem Wasser, also die Bedeutung einer geringen Hypotonie. Leichte Hypotonien schwächen also die Kontrakturwirkung schon sehr merklich ab. Es ist hingegen

gleichgültig (Abb. 2 A und B, obere Kurven), ob man in 0,7 %iger Kochsalzlösung oder in Ringerlösung das Coffein beibringt. Die Nebensalze der Ringerlösung sind also belanglos, höchstens, daß sich die K-Ion-Wirkung

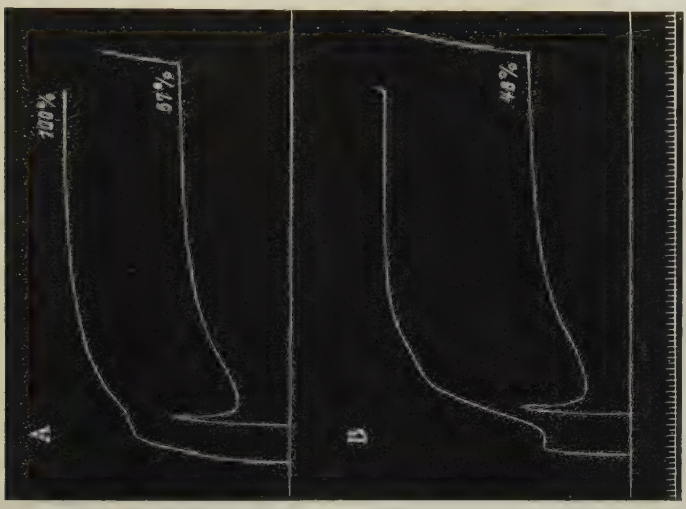


Abb. 2. Wirkung der Hypotonie der injizierten Coffeinlösung:
A. Obere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.
Untere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm dest. Wasser.
B. Obere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm Ringer.
Untere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm dest. Wasser (jeweils Muskelpaar desselben Frosches).

Abb. 3. Wirkung der Hypotonie der injizierten Coffeinlösung:
A. Obere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm 1,4 %iger Kochsalzlösung.
Untere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.
B. Obere Kurve wie A obere Kurve.
Untere Kurve zeigt eine besonders langsame Coffeindiffusion.

durch eine etwas geringere Kontrakturhöhe (98 % in 2 B gegen 100 % in 2 A) bemerkbar macht. Die Hypertonie (Abb. 3 A) ist von wesentlich geringerer Bedeutung; denn injiziert man die Coffeinmenge in 1,4 %iger Kochsalzlösung, so ist der Kontrakturwert des Coffeins um eine Kleinigkeit

größer als der des Coffeins in isotonischer Kochsalzlösung. Dies gilt für die erreichten Maxima. Allerdings geht die Entwicklung der Kontraktur in der hypertonischen Lösung mit größerer Geschwindigkeit vor sich, und hat in Zeiten schon das Maximum, in denen sie die Injektion in isotonischer Lösung noch nicht hat (Abb. 3 B). Die Deutung der letzteren Erscheinung, nämlich, daß die Coffeinwirkung in hypertonischer Lösung sich rascher entwickelt als in isotonischer, dürfte ihre Erklärung darin finden, daß die Möglichkeit der Ausbreitung durch Diffusionsströmungen bei hypertonischer Injektion besser ist als bei isotonischer, wo ja gar keine Konzentrationsspannungen bestehen. Durch den langsameren Diffusionsvorgang dürfte sich auch die Deformation der Kurven durch anfängliche Nasenbildung (Abb. 1 A) erklären, die in hypertonischen Lösungen nicht vorkommen.

3. Der wasserstarre Muskel.

Bei der Coffeinkontraktur in isotonischer Lösung kommen unmittelbar nach der Coffeininjektion mehrphasige Vorgänge zur Erscheinung, wie Abb. 1 A zeigt. Diese erscheinen auch, wenn das Coffein in Form von Kaffee oder sonstigen osmotisch undefinierten Lösungen injiziert wird. Die Wirkungen können graphisch sehr eindrucksvolle Abbildungen geben, wie z. B. für die Kaffee-Injektion in der früheren Arbeit angegeben wurde. Sie haben immer glatte Maxima, die zwar in ihrer absoluten Höhe verschieden sein können, aber doch im jeweiligen Falle eben Maxima sind. Dementsprechend wäre zu erwarten, daß das Coffein am wasserstarren Muskel überhaupt nicht wirkt. Der Versuch hat diese Annahme bestätigt. Wenn man einen Gastrocnemius etwa 30 Minuten in destilliertes Wasser einlegt, verliert er seine elektrische Erregbarkeit, er wird starr. Injiziert man in ihn die bewährte Dosis von 0,15 mg Coffein, oder auch von 0,3 mg, so sind diese völlig wirkungslos. Da die Wasserstarre darauf beruht, daß das Globulin des Muskels in destilliertem Wasser unlöslich wird, darf man annehmen, daß die Kontrakturwirkung des Coffeins an dieser Globulinfraktion des Muskeleiweißes ansetzt. Ein solcher Muskel ist bekanntlich auch elektrisch indifferent. Zwischen Querschnitt und Längsschnitt bestehen keine Potentialspannungen mehr. Die Wasserstarre an sich läßt sich mit der Coffeinstarre übrigens nicht vergleichen; denn der kontraktorische Endeffekt des Muskels im wasserstarren Zustand ist ganz unbedeutend und ist auch mit dem einer submaximal wirksamen Dosis von Coffein nicht zu vergleichen.

Des weiteren wurde an einigen Coffeinverbindungen geprüft, wie etwa quantitativ die Coffeinwirkung durch andere Stoffe verändert werden kann.

A. Chlorogensäure.

Das Chlorogensaure Kali-Coffein ist bekanntlich die Form, in der das Coffein im Kaffee enthalten ist. Es ist eine gut kristallisierende Verbindung. Durch das Chlorogensaure Kali wird das Coffein leicht löslich gemacht.

Die Verbindung ist ausreichend röstbeständig und ist außerdem im Kaffee im Überschuß vorhanden. Da bekannt ist, daß die Chlorogensäure auch sonstige Wirkungen des Coffeins verändert (H. Gebhardt [2], E. Triendl [3]), wurde die Wirkung der Chlorogensäure auf die Muskelstarre noch besonders untersucht.

Vergleicht man die normale Wirkung des Coffeins systematisch mit der des Chlorogensauren Kali-Coffeins, wobei die molaren Verhältnisse Chlorogensaures Kali zu Coffein variieren, so ist eine Veränderung der Kurve im molaren Verhältnis der Paarlinge (Abb. 4 [5]) sehr unbedeutend

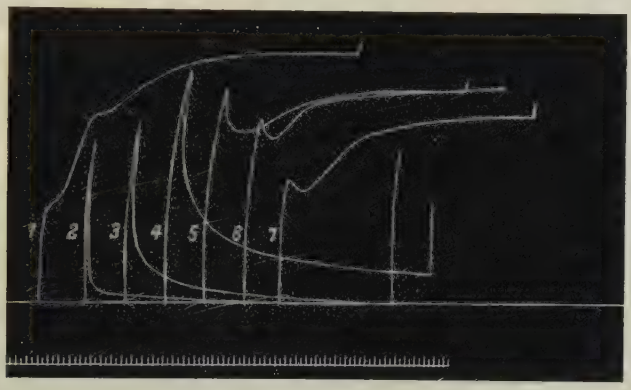


Abb. 4. Wirkung von Chlorogensaurem Kali auf Coffein in absteigenden molaren Verhältnissen:
1. Injektion von 0,15 mg Coffeinum purum in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung;
2. Injektion von Chlorogensaurem Kali : Coffein 10 : 1 in 0,7 % NaCl
3. „ „ „ „ : „ 5 : 1 „ 0,7 % „
4. „ „ „ „ : „ 2 : 1 „ 0,7 % „
5. „ „ „ „ : „ 1 : 1 „ 0,7 % „
6. „ „ „ „ : „ 0,5 : 1 „ 0,7 % „
7. „ „ „ „ : „ 0,2 : 1 „ 0,7 % „
(Coffeinmenge stets 0,15 mg.)

höchstens, daß das Maximum gegen die Norm etwas erniedrigt ist *. Der normale Muskel zeigt unter Coffeinwirkung eine Kontraktur von 30 % seiner Ruhelänge, der mit Chlorogensaurem Kali-Coffein behandelte Muskel etwa 25 % seiner Ruhelänge. Das wird auch für die molaren Verhältnisse, in denen das Coffein überwiegt (Abb. 4 [6] und [7]) nicht anders. Wenn hingegen das Chlorogensaure Kali überwiegt, macht sich dessen Wirkung in einer Hemmung der Coffeinstarre-Entwicklung bemerkbar, die beim Verhältnis 2 : 1 schon deutlich ist und ab 5 : 1 die Starre-Entwicklung überhaupt verhindert. Das Chlorogensaure Kali ist also wie so viele andere Substanzen (Schüller [4]) ein Antagonist der Starrewirkung des Coffeins.

[2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 696 (1939). — [3] Ebenda **192**, 53 (1939). — [4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **105**, 299 (1925).

* Der Widerspruch mit den ziffernmäßigen Ergebnissen, die in der ersten Arbeit mitgeteilt sind, ist nur scheinbar. In dieser wurde das Chlorogensaure Kali-Coffein in destilliertem Wasser injiziert, in dieser Arbeit aber in 0,7%iger Kochsalzlösung. Die frühere Kurve hat also einen Hypotoniefehler.

Daneben besteht noch eine direkte Lähmungswirkung durch das Chlorogensaure Kali auf die Kontraktilität. Die supplementären Zuckungen werden kleiner, was vielleicht eine Kaliwirkung sein kann.

Da im molaren Verhältnis der Paarlinge die Starre noch unbeeinflußt ist, ein Kaffeeabsud aber eine sehr deutliche Starrehemmung zeigt, ist anzunehmen, daß im Aufguß von geröstetem Bohnenkaffee die Chlorogensäure noch im Überschuß vorhanden ist.

B. Novocain.

Novocain-HCl ist ein langbekannter Antagonist gegen die Kontrakturwirkung des Coffeins (Schüller, l. c.). Der antagonistische Vorgang wird als Folge einer Komplexbildung gedeutet. Die Deutung ist aber umstritten. Systematische Untersuchungen variierter Kombinationen der beiden Paarlinge zeigen (Abb. 5[1]), daß hier im Gegensatz zum Chlorogensauren

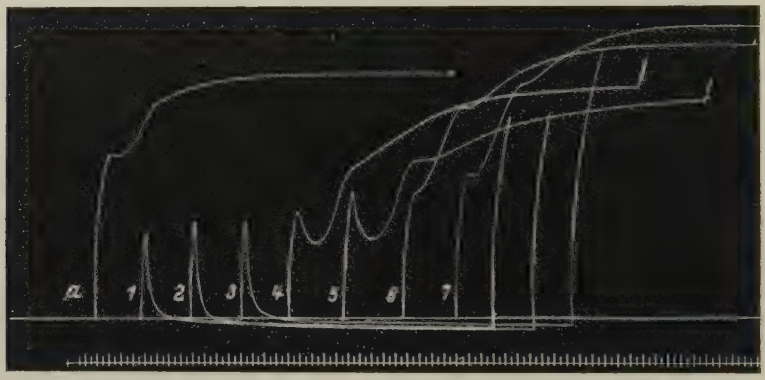


Abb. 5. Antagonismus Novocain HCl : Coffein in verschiedenen molaren Verhältnissen:
a) Injektion von 0,15 mg Coffeinum purum in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung;
1. Injektion von Novocain HCl : Coffein 1 : 1 in 0,1 ccm 0,7 %iger NaCl-Lösung
2. „ „ „ „ : „ 1 : 2 „ 0,1 „ 0,7 „ „
3. „ „ „ „ : „ 1 : 4 „ 0,1 „ 0,7 „ „
4. „ „ „ „ : „ 1 : 6 „ 0,1 „ 0,7 „ „
5. „ „ „ „ : „ 1 : 10 „ 0,1 „ 0,7 „ „
6. „ „ „ „ : „ 1 : 20 „ 0,1 „ 0,7 „ „
7. „ „ 0,15 mg Coffeinum purum „ 0,1 „ 0,7 „ „
(Coffeinmenge stets 0,15 mg.)

Kali beim molaren Mischungsverhältnis die Kontrakturwirkung völlig ausbleibt. Die Kontraktilität, ersichtlich aus der Wirksamkeit des Supplementärreizes, bleibt aber erhalten. Das Coffein durchbricht die Novocainhemmung erst, wenn seine Konzentration die vierfach molare ist. Maximal, d. h. der verwendeten Coffeindosis quantitativ entsprechend, wirkt das Coffein erst wieder vom molaren Verhältnis 1 : 20 ab, was eigentlich gegen die Annahme eines definierten Komplexes spricht, und eher diejenige in den Vordergrund schiebt, die auf einen dualistischen Angriff der beiden Komplexpaarlinge hindeutet. Da nach Schüller durch das Novocain auch die Ent-

stehung des Ruhestromes verhindert wird, dieser aber nach jetzt geltenden Anschauungen (Schäfer[5]) eine Angelegenheit der Membranpermeabilität ist, erscheint nunmehr die schon früher vorgetragene Annahme berechtigt, daß das Novocain, wie übrigens auch das Chlorogensaure Kali, die Membranpermeabilität in irgendeiner Weise beeinflußt. Die Membran wird nicht völlig impermeabel. Erst höhere Konzentrationen von Coffein dringen wieder durch und finden einen Weg zu dem Muskelglobulin, mit dem sie ja die Starre erzeugen. Es steht nichts im Wege, eine derartige „Membrangerbung" auch für die vielen anderen Substanzen als Wirkungsursache anzunehmen, die Schüller gefunden hat.

C. Coffeindoppelsalze.

Das oben behandelte Chlorogensaure Kali-Coffein ist eine leicht wasserlösliche, echte kristallisierende additionelle Verbindung des Coffeins. Die echten, kristallisierenden *Salze* des Coffeins, wie das Chlorhydrat, Nitrat usw., zerfallen schon beim Auf-

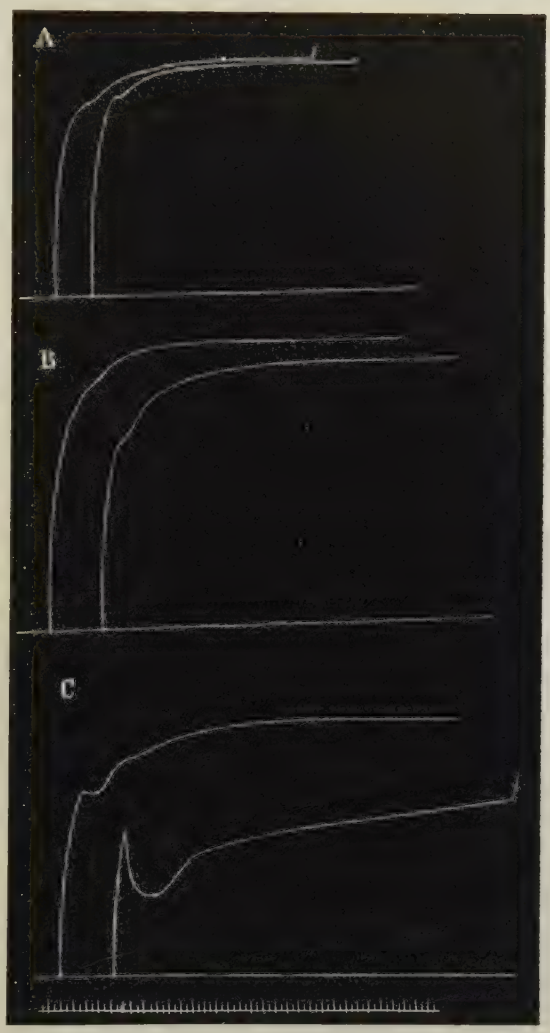


Abb. 6.

A. Obere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.
Untere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein und der äquivalenten Menge von Natriumcitrat in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

B. Obere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.
Untere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffein und der äquivalenten Menge von Natriumbenzoat in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.

C. Obere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffeinum purum in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.
Untere Kurve: Injektion von 0,15 mg Coffeinum purum und der äquivalenten Menge von Kaliumbenzoat in 0,1 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung.

[5] Schaefer, H.: Elektrophysiologie, I. Bd. Wien, Verlag Fr. Deuticke, 1940.

bewahren in ihre Bestandteile, noch mehr aber in wässeriger Lösung[6]. Für die Zwecke dieser Untersuchung kommen sie also ebensowenig in Frage wie für irgendeine praktische Verwendung. Die in der Therapie verwendeten üblichen sogenannten Doppelsalze des Coffeins mit den Alkalisalzen bestimmter organischer Säuren kristallisieren zwar nicht alle, entsprechen aber hinsichtlich Beständigkeit und Löslichkeit allen praktischen Anforderungen. Wir haben sie untersucht, um festzustellen, ob der löslichkeitsvermittelnde Salzpartner dieser Verbindungen die Kontrakturwirkung des Coffeins verändert. Wir stellten uns molare Lösungen der einzelnen Bestandteile dar oder verwendeten die auf einen Durchschnittsgehalt von 40 % Coffein gehaltenen Doppelsalze der Pharmakopoe*. Es hat sich herausgestellt, daß diese sogenannten Doppelsalze lediglich entsprechend ihrem Coffeingehalt kontrakturwirksam sind. Die untersuchten organischen Säurepaarlinge erwiesen sich als die Kontraktur nicht modifizierend. Der Alkaligehalt kam höchstens dann etwas zur Geltung, wenn die organischen Kalisalze verwendet wurden (Abb. 6 C, untere Kurve).

Zusammenfassung.

1. Die methodischen Besonderheiten der Coffeinmessung durch dessen Starrewirkung am Muskel des Frosches werden verfolgt.

2. Muskelmechanisch wird der Einfluß der Belastung studiert, die mit 20 g direkter Last als optimal befunden wird.

3. Einige Modifikationen der Kontrakturwirkung durch andere Stoffe, wie das Chlorogensaure Kali, Novocain HCl und sogenannte Doppelsalze organischer Säuren, werden untersucht.

Nachtrag bei der Korrektur.

Wir waren in letzter Zeit wegen Froschmangel gezwungen, die Versuche an Esculenten durchzuführen. Dabei hat sich herausgestellt, daß eine Proportionalität zwischen Muskelgewicht und maximaler Grenzdosis von Coffein besteht. In den früheren Versuchen wogen die Temporarien-Gastrocnemii etwa 0,5 g. Die jetzt verwendeten Esculenten hatten, ihrem größeren Körpergewicht entsprechend, einen Gastrocnemius von etwa 1,0 g. Die an Temporarien ermittelte maximale Grenzdosis von 0,15 mg Coffein pro Muskel liegt bei Esculenten bei etwa 0,3 mg. Sonst besteht aber kein Qualitätsunterschied der Coffeinwirkung zwischen Esculenten und Temporarien in unseren Versuchen. Dies ist zu berücksichtigen.

---

[6] Schmidt, E.: Pharmazeutische Chemie, II. Organ. Chemie, 2. Abtlg., S. 1971.

* Der Firma C. F. Boehringer u. Söhne, Mannheim-Waldhof, sagen wir hiermit verbindlichsten Dank für die Überlassung dieser Präparate.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

Untersuchungen über den Oxytocin-Vasopressin-Gehalt des Hypophysenhinterlappens der Ratte und dessen Verhalten nach Kochsalz- und Wasserbelastung (bei kochsalzfreier Ernährung)*.

Von

Philipp Liebert.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. April 1941.)

Seitdem die verzögernde Wirkung von Hypophysenhinterlappenauszügen (HHl.) auf die Harnausscheidung bekannt ist, befaßten sich mehrfach Arbeiten mit den Bestimmungen des Gehalts an Uterus- und Blutdruckwirksamkeit der HHl. von Tieren, die veränderten Bedingungen des Wasserhaushaltes ausgesetzt waren, um durch Vergleich mit den HHl. normaler Tiere Rückschlüsse auf eine Regulierung der Hormonsekretion ziehen zu können.

So fand E. Hesse (1) beim Kaninchen nach Sublimatgabe keine blutdruckwirksame Substanz mehr, mit der bekanntlich die diuresehemmende Wirkung verknüpft ist. Außerdem war in 2 von 3 Fällen keine Wirksamkeit mehr am überlebenden graviden Meerschweinchenuterus feststellbar. C. Pak (2) beobachtete bei Rattenhypophysen ebenfalls ein Absinken der Uteruswirksamkeit nach Sublimatvergiftung. A. Simon (3) hielt 11 Ratten 3—7 Tage lang bei gewöhnlichem Futter wasserfrei und konnte eine starke Verminderung sowohl des pressorischen als auch des oxytocischen Prinzips im HHl. gegenüber den normalen Kontrollen feststellen. Dagegen blieb bei weiteren 11 Ratten, die bei normaler Diät 3—7 Tage lang 3mal täglich 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal erhalten hatten, der Gehalt an beiden Prinzipien unbeeinflußt. Die Verminderung im ersten Falle wird vom Verfasser als Folge einer zur Verhinderung eines bedrohlichen Wasserverlustes vermehrten HHl.-Sekretion angesehen. Dafür sprechen auch die Untersuchungen von Gilman und Goodman (4), die im Durstharn, dagegen nicht im normalen Harn Vasopressin nachweisen konnten. Für die normale Rattenhypophyse fand A. Simon, daß weitgehend unabhängig vom Gewicht der Tiere 0,8 Einheiten des blutdrucksteigernden und uteruswirksamen Faktors enthalten waren. Das Verhältnis beider war stets dasselbe wie im Standardpulver.

Die eigenen Auswertungen und Beobachtungen wurden abweichend von den oben genannten Autoren, die mit Extrakten ganzer Hypophysen

* D 11.

arbeiteten, mit abgemessenen Mengen isolierter Hypophysenhinterlappen durchgeführt. Aus einem Hinterlappen ließ sich soviel Extrakt gewinnen, daß er zur Injektion an 2 Gruppen (zusammen 8 Ratten) und noch zur Prüfung am isolierten Uterus ausreichte.

Methodik.

Die Hinterlappen 140–190 g schwerer männlicher weißer Ratten wurden sofort nach Tötung und Dekapitation der Tiere von der restlichen Hypophyse getrennt, gründlich von ihrer bindegewebigen Kapsel befreit, auf der Torsionswaage gewogen, in 3 ccm 0,25 %iger Essigsäure sorgfältig zerrieben und anschließend 4 Minuten in ein siedendes Wasserbad gebracht. Die Auswertungen des pressorischen Prinzips erfolgten nach der von Burn (5) angegebenen Methode im Ratten-Diureseversuch. Hiernach erhielten die 130–240 g schweren männlichen weißen Ratten, in Gruppen zu je 4 Tieren eingeteilt, je 100 g 5 ccm körperwarmes Wasser mit der Magensonde und die in physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Extrakt- und Standarddosen unter die Bauchhaut injiziert. Mit Ausnahme einer Versuchsreihe, in der die Dosen auf 100 g Tiergewicht berechnet wurden, erhielt jedes Tier einer Gruppe die gleiche Dosis. Die Zeit, die nach Versuchsbeginn, d. h. nach Wasserstoß und Injektion bis zur Ausscheidung der Hälfte der Gesamtharnmenge der Wasserdiurese verstreicht (Z. d. m. A.), gibt dann den Grad der Verzögerung der Diurese an, die durch Hypophysenhinterlappenextrakt bewirkt wird. Bei einigen Versuchen wurden in Anlehnung an die Auswertungsmethode von Marx (6) die Chloridmengen im Harn nach der Methode von Volhard 3 Stunden und 24 Stunden nach Versuchsbeginn bestimmt. In den Tabellen sind die Chloridwerte als NaCl angegeben. Die Oxytocinauswertung wurde an ausgeschnittenen Stücken aus Schafuterushörnern in 22 ccm Tyrodebad durchgeführt. Als Standard diente Hypophysin-Bayer des Handels (1 ccm = 3 Voegtlin-Einheiten). Die Versuchstiere erhielten ein Mischfutter aus Mais, Gerste und gemahlenen Krabben.

Ergebnisse.

I. Auswertungen normaler Hypophysenhinterlappen.

Die HHl. normaler männlicher Ratten wogen 0,47–1,25 mg, in der Mehrzahl aber etwa 0,7–0,9 mg. Ihr Gewicht stand in keinem konstanten Verhältnis zum Körpergewicht. Der Gehalt pro Gamma Substanz schien im allgemeinen der gleiche zu sein; sicher war er in den leichteren HHl. nicht gegen die schwereren vermehrt, so daß die im HHl. enthaltene Hormonmenge seinem Gewicht entspricht.

Bei den Auswertungen normaler HHl. im Diureseversuch wurden einmal die Mittelwerte aus sämtlichen für jede Standard- und Extraktdosis gefundenen Zeiten der mittleren Ausscheidung miteinander verglichen (Tabelle 1). Auf diese Weise konnten auch die mitunter paradoxen

Tabelle 1. Auswertungen normaler HHl (Sammelergebnisse).

Dosis	Leer	0,004 E. Hypophysin	(5,5 γ HHl.)	0,006 E. Hypophysin	7,5 γ HHl.
Anzahl der verwendeten Gruppen	43	26	(6)	21	28
Z. d. m. A. Mittelwerte und mittlerer Fehler in Minuten	99 ± 3,44	132 ± 3,14	(130)	145 ± 2,63	150 ± 2,92

Auswertungsergebnis: 10 γ = > 0,008 E.

Tabelle 2. Auswertungen normaler HHl.
Aufstellung der Auswertungsresultate eines jeden Versuchstages.

Gewicht der Gruppen g	Dosis	Gewicht des Spenders und dessen HHl. g/mg	Z. d. m. A. in Minuten		Auswertungsergebnisse: Diurese	Auswertungsergebnisse: Uterus
716	0,006 E. Hp.		146			
757	0,004 „		138			
736	5,5 γ HHl.	148/1,0	125	130	5,5 γ < 0,004 E. Hp.	–
717	5,5 „ „		134			
696	0,006 E. Hp.		135			
647	0,004 „		143			
790	7,5 γ HHl.	170/0,75	133	132	–	–
734	7,5 „ „		131			
686	5,5 „ „		117	126		
737	5,5 „ „		134			
763	0,006 E. Hp.		151			
772	0,004 „		136			
764	7,5 γ HHl.	150/1,0	141	143	7,5 γ < 0,006 E. Hp.	–
731	7,5 „ „		145			
720	5,5 „ „		126	134	5,5 γ = 0,004 E. Hp.	
749	5,5 „ „		141			
816	0,006 E. Hp.		129			
–	–		–			
812	7,5 γ HHl.	190/0,82	146	141	7,5 γ > 0,006 E. Hp.	10 γ = 0,006 E. Hp.
805	7,5 „ „		136			
763	Leer		94	93		
814	„		92			
769	0,006 E. Hp.		131			
780	0,004 „		123			
759	7,5 γ HHl.	173/0,9	158	153	7,5 γ > 0,006 E. Hp.	10 γ = 0,005 E. Hp.
725	7,5 „ „		148			
713	Leer		124	133		
804	„		141			
794	0,006 E. Hp.		142			
834	0,004 „		114			
804	7,5 γ HHl.	145/0,95	162	155	7,5 γ > 0,006 E. Hp.	10 γ = 0,005 E. Hp.
748	7,5 „ „		147			
852	Leer		93			

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Gewicht der Gruppen g	Dosis	Gewicht des Spenders und dessen HHl. g/mg	Z. d. m. A. in Minuten		Auswertungsergebnisse: Diurese	Auswertungsergebnisse: Uterus
556	0,006 E. Hp.		150			
586	0,004 „		152			
553	7,5 γ HHl.	147/0,86	143	147	7,5 γ	10 γ
573	7,5 „ „		151		< 0,006 E. Hp.	= 0,004 E. Hp.
526	Leer		98	90		
624	„		82			
657	0,006 E. Hp.		136			
644	0,004 „		165			
652	7,5 γ HHl.	159/0,61	160	157	—	10 γ
705	7,5 „ „		154			≦ 0,004 E. Hp.
742	Leer		77	88		
—	„		99			
697	0,006 E. Hp.		151			
716	0,004 „		144			
683	7,5 γ HHl.	154/0,7	131	148	7,5 γ	10 γ
705	7,5 „ „		165		< 0,006 E. Hp.	= 0,003 E. Hp.
804	7,5 „ „	138/0,7	155	142	7,5 γ	10 γ
628	7,5 „ „		128		= 0,004 E. Hp.	= 0,0075 E. Hp.
682	Leer		103	108		
767	„		113			
686	0,006 E. Hp.		150	154		
756	0,006 „		158			
771	7,5 γ HHl.	—/0,72	180	177	7,5 γ	10 γ
789	7,5 „ „		173		> 0,006 E. Hp.	= 0,005 E. Hp.
832	7,5 „ „	—/0,76	175	172	7,5 γ	10 γ
707	7,5 „ „		169		> 0,006 E. Hp.	= 0,005 E. Hp.

Zusammenfassung der Z. d. m. A. aus Tabelle 2 (Mittelwert und mittlerer Fehler):

0,006 E. (an 11 Gruppen) = 144 ± 2,88
7,5 γ („ 12 „) = 151 ± 3,24
Leer („ 11 „) = 102 ± 5,58

Geschätztes Ergebnis:

$10\,\gamma \geqq 0{,}008$ E. Hypophysin.

Aus Abb. 3 durch Extrapolation errechnetes Ergebnis:

$10\,\gamma = 0{,}009$ E. Hypophysin.

Zusammenfassung der einzelnen Tagesauswertungsergebnisse:

Diurese		Uterus	
7,5 γ 5 mal	> 0,006 E. Hp.	10 γ 1 mal	≈ 0,0075 E. Hp.
7,5 „ 3 „	< 0,006 „	10 „ 1 „	≈ 0,006 „
7,5 „ 1 „	= 0,004 „	10 „ 4 „	≈ 0,005 „
5,5 „ 2 „	≦ 0,004 „	10 „ 2 „	≈ 0,004 „
		10 „ 1 „	≈ 0,003 „

Geschätztes Ergebnis:

$10\,\gamma = \approx 0{,}008$ E. Hypophysin. $10\,\gamma = \approx 0{,}005$ E. Hypophysin.

Z. d. m. A. einbezogen werden. Aber auch die Zusammenstellung der Auswertungsresultate an jedem Versuchstage, soweit diese möglich waren, führt zu dem gleichen Ergebnis (Tabelle 2). Es entsprachen jedesmal schätzungsweise 10 γ HHl.-Substanz 0,008 E. und mehr (Tabelle 1 und 2, Zusammenfassung). Der aus der unten näher zu beschreibenden Kurve (Abb. 3) für 10 γ errechnete Wert beträgt sogar 0,009 E.

Der Mangel, daß für die Standarddosen nicht die gleiche Anzahl von Rattengruppen verwendet wurde, wie für die Extraktdosen, ließ es angezeigt erscheinen, die Auswertung in anderer Form zu wiederholen. An insgesamt je 10 Rattengruppen wurden im Kreuzversuch an 2 Versuchstagen 4 γ pro 100 g Rattengewicht mit 0,003 E. pro 100 g Standard verglichen und das früher gewonnene Ergebnis bestätigt (Tabelle 3).

1 mg frischer Ratten-HHl.-Substanz enthält demnach 0,9 Voegtlin-Einheiten = 0,45 mg Standard-Trockensubstanz (1 V.-E. = 0,5 mg Trockensubstanz von Schlachtviehhypophysen). Da nun das Gewicht der entsprechenden Frischsubstanzmenge das 6,4fache der Trockensubstanzmenge

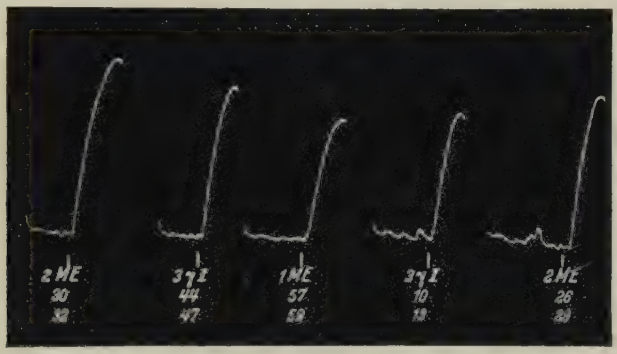


Abb. 1. Streifen von Schafuterus. — Milli-Einh. Hypophysin-Bayer (ME). I = HHl.-Substanz einer normalen Ratte (γ). Ergebnis: 10 γ = 0,005 E. (derselbe HHl. im Diureseversuch s. Tabelle 2: 10 γ = 0,008 E.).
Die Uhrminutenzeiten unter den Dosenbezeichnungen geben jeweils den Zeitpunkt der Zugabe und der Entfernung der Substanz aus dem Tyrodebad an.

beträgt*, so ergibt sich daraus für den Ratten-HHl. ein etwa dreimal größerer Gehalt an antidiuretischer Wirksamkeit, als die gleiche Menge Schlachthypophyse besitzt. (1 mg Ratten-HHl. = 2,88 mg Schlachtvieh-HHl.)

Die Uterusauswertungen ergaben für 10 γ einen Gehalt von 0,004 bis 0,005 E. Oxytocin (Abb. 1). Es wurde also nicht das gleiche Verhältnis der beiden Wirkstoffe wie im Standard gefunden.

II. Hypophysenhinterlappengehalt nach Kochsalzbelastung.

a) Nach einmaliger Belastung. Es wurden die HHl. zweier Ratten untersucht, denen 0,5 ccm 17,5 %iger NaCl-Lösung in die Schwanz-

* Siehe Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Jul. Springer, 1937.

Tabelle 3. Auswertungen normaler HHl. (Dos./100 g Ratte).

Gruppennummer	Gewicht der Gruppen g	Gewicht des Spenders und dessen HHl. g/mg	Dos./100 g	Z. d. m. A. in Minuten
1	808		4 γ HHl.	194
2	723		4 „ „	191
3	786	160/0,867	4 „ „	188
4	720		4 „ „	168
5	780		4 „ „	181
6	693		0,003 E. Hp.	160
7	770		0,003 „	192
8	700	—	0,003 „	188
9	757		0,003 „	188
10	706		0,003 „	186
6	715		4 γ HHl.	183
7	783		4 „ „	243
8	701	177/0.789	4 „ „	217
9	772		4 „ „	220
10	727		4 „ „	203
1	825		0,003 E. Hp.	208
2	726		0,003 „	209
3	804	—	0,003 „	200
4	726		0,003 „	168
5	801		0,003 „	181

Mittelwerte und mittlerer Fehler:

$$0{,}003 \text{ E./100 g} = 188 \pm 4{,}98$$
$$4\,\gamma\text{/100 g} = 199 \pm 7{,}05$$

Ergebnis: 10 γ norm. HHl. > 0,0075 E. Hypophysin-Bayer.

vene injiziert worden waren; das eine Tier wurde auf der Höhe der einsetzenden Diurese nach 68 Minuten, das andere 6 Stunden nach der Applikation getötet. In beiden Fällen glichen die Auswertungsergebnisse im Diureseversuch denen normaler HHl.

b) Nach längerdauernder Belastung. In einer weiteren Versuchsanordnung bekamen die HHl.-Spender ohne sonstige Nahrungseinschränkung während längerer Zeit (5—7 Tage) jeden zweiten Tag 2—5%ige NaCl-Lösungen in einer Menge von 5 ccm/100 g mit der Magensonde verabreicht (Tabelle 4, Serie 1—5). Hier zeigt sich in 4 von 5 Versuchsreihen eine deutliche Verminderung der diuresehemmenden Wirkung. War die Z. d. m. A. nach Injektion von 7,5 γ normaler HHl.-Substanz in diesen 5 Reihen übereinstimmend mit dem Sammelergebnis für diese Dosis (Tabelle 1) im Mittel 151 Minuten, so ergaben die gleichen HHl.-Mengen kochsalzvorbehandelter Tiere durchschnittlich nur 128 Minuten als Zeit der mittleren Ausscheidung. Diese Zeiten liegen nur wenig oberhalb bzw.

unterhalb der ermittelten Sammel-Standardwerte für 0,006 E. (= 145 Minuten) und 0,004 E. (= 132 Minuten); siehe Tabelle 1.

Nimmt man nun für diesen Bereich einen der Steigerung der Dosis proportionalen Anstieg der diureseverzögernden Wirkung an, d. h. also in der graphischen Darstellung (Abb. 3) eine Gerade, so erhält man durch Extrapolation folgendes Ergebnis:

7,5 γ norm. HHl. = 0,0069 E. (10 γ = 0,0092 E.)
7,5 γ NaCl-HHl. = 0,0034 E. (10 γ = 0,0045 E.)

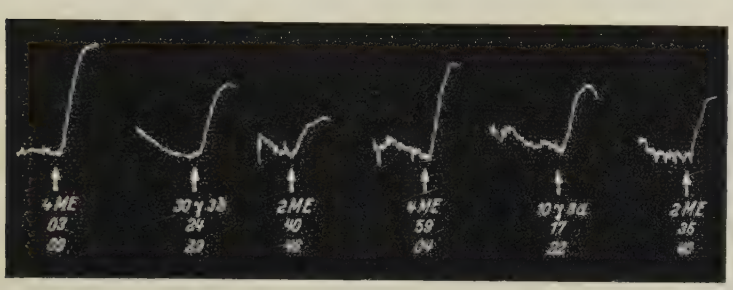


Abb. 2. Schafuterus. — Milli-Einh. Hypophysin Bayer (ME). 3a = normales HHl.-Extrakt. 3b = NaCl-HHl.-Extrakt (s. auch Tabelle 4_3). Ergebnis 3a: 10 γ = 0,003 E., 3b: 10 γ = 0,001 E. Die Uhrminutenzeiten unter den Dosenbezeichnungen geben jeweils den Zeitpunkt der Zugabe und der Entfernung der Substanz aus dem Tyrodebad an.

Selbst bei einem nicht geraden Verlauf der Kurve kann der Fehler dieser Schätzung nicht sehr groß sein, da die zu schätzenden Werte nicht wesentlich von den Standardwerten entfernt liegen. Demnach findet sich nach der beschriebenen NaCl-Vorbehandlung eine Verminderung an antidiuretischer Wirksamkeit um die Hälfte. Die Uteruswirksamkeit der NaCl-HHl. war in wechselndem Ausmaße herabgesetzt (Abb. 2), im Mittel schätzungsweise unter die Hälfte der Norm gesunken (Tabelle 4, Zusammenfassung).

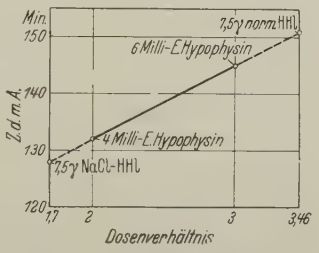


Abb. 3. Dosis-Wirkungskurve. Abszisse: Dosen in willkürlicher Einheit; Ordinate: Zeit der mittleren Ausscheidung in Minuten. NaCl-HHl.-Extrakt aus Hypophysensubstanz kochsalzbehandelter Spender.

III. Verhalten kochsalzbelasteter Ratten im Diureseversuch.

Bei jedem der letztgenannten 5 Kochsalzversuche wurden jeweils 3—4 Rattengruppen in gleicher Weise und zu gleicher Zeit wie die Hypophysenspender mit 2—5%igen Kochsalzlösungen per os vorbehandelt (Tabelle 4_{1-5}) und ihr Verhalten im Diureseversuch geprüft. Es zeigten sich keine wesentlichen Abweichungen von den Z. d. m. A. normaler Versuchstiere sowohl im Leerversuch, als auch nach Hypophysingaben. Demnach hat über längere Zeit (5—7 Tage) dauernde Kochsalzbelastung,

Tabelle 4. HHl.-Untersuchungen nach Kochsalzbelastung.

	Gewicht der Gruppen g	Gewicht des Spenders und dessen HHl. g/mg	Dosis s. c.	Z. d. m. A. in Minuten		Auswertungsergebnisse: Diurese	Auswertungsergebnisse: Uterus
1. 1 Hypophysenspender (NaCl-HHl.) und 4 Empfängergruppen wurden dreimal mit je 1 Tag Zwischenraum mit 5 ccm 100 g NaCl-Lösung aufsteigender Konz. (2%, 4%, 5%) per os vorbehandelt. Hp. = Hypophysin-Bayer.							
a. NaCl-vorbeh. Empf.	771		0,006 E. Hp.	126			
	731		0,004 „	114			
	747		Leer	62	76		
	787		„	89			
b. Normale Empfänger	783		Leer	94	93		
	805		„	92			
	816		0,006 E. Hp.	129			
	—		0,004 „	—			
	812	190/0,82	7,5 γ norm. HHl.	146	141	10 γ	10 γ
	805		7,5 „ „	136		≧ 0,008 E.	≈ 0,006 E.
	778	190/0,95	7,5 „ NaCl-HHl.	115	119	10 γ	10 γ
	773		7,5 „ „	122		< 0,008 E.	≈ 0,0025 E.
2. 1 Hypophysenspender und 4 Empfängergruppen wurden dreimal mit je 1 Tag Zwischenraum mit 5 ccm/100 g 4%iger NaCl-Lösung per os vorbehandelt.							
a. NaCl-vorbeh. Empf.	826		0,006 E, Hp.	138			
	851		0,004 „	109			
	792		Leer	97	95		
	840		„	92			
b. Normale Empfänger	713		Leer	124	133		
	804		„	141			
	769		0,006 E. Hp.	131			
	780		0,004 „	123			
	759	173/0,9	7,5 γ norm. HHl.	158	153	10 γ	10 γ
	725		7,5 „ „	148		> 0,008 E.	= 0,005 E.
	756	188/0,9	7,5 „ NaCl-HHl.	143	140	10 γ	10 γ
	780		7,5 „ „	136		≧ 0,008 E.	= 0,0035 E.
3. 1 Hypophysenspender und 3 Empfängergruppen vorbehandelt wie 2.							
a. NaCl-vorbeh. Empf.	791		0,006 E. Hp.	134			
	804		0,004 „	121			
	772		Leer	100			
b. Normale Empfänger	852		Leer	93			
	794		0,006 E. Hp.	142			
	834		0,004 „	114			
	804	145/0,95	7,5 γ norm. HHl.	162	155	10 γ	10 γ
	753		7,5 „ „	147		> 0,008 E.	0,0033 E.
	758	175/0,97	7,5 „ NaCl-HHl.	146	139	10 γ	10 γ
	797		7,5 „ „	132		≦ 0,008 E.	≈ 0,001 E.

Tabelle 4 (Fortsetzung).

	Gewicht der Gruppen g	Gewicht des Spenders und dessen HHl. g/mg	Dosis s. c.	Z. d. m. A. in Minuten		Auswertungs-Ergebnisse Diurese	Auswertungs-Ergebnisse Uterus	mg/ccm NaCl im 3 Std.- und 24 Std.-Harn
NaCl vorbeh. Empf.	616		0,006 E. Hp.	179				4,39— 3,3
	583		0,004 „	151				4,2 — 5,0
	634		Leer	75				2,34— 9,0
Normale Empfänger	526		Leer	98	90			1,76— 6,35
	624		„	82				1,02— 9,3
	556		0,006 E. Hp.	150				3,1 — 6,86
	586		0,004 „	152				1,7 — 9,53
	553	147/0,86	7,5 γ norm. HHl.	143	147	Norm. HHl.	10 γ	3,8 — 4,18
	573		7,5 „ „	151			≈ 0,004 E.	3,54— 2,14
	589	144/0,77	7,5 „ NaCl-HHl.	101	99	NaCl-HHl.	10 γ	1,61—10,32
	621		7,5 „ „	97			< 0,001 E.	2,63 — 6,36

5. 1 Hypophysenspender und 4 Empfängergruppen vorbehandelt wie 4.

NaCl vorbeh. Empf.	626		0,006 E. Hp.	163				2,75—2,96
	659		0,004 „	148				2,46—3,46
	541		Leer	73	76			1,03— —
	700		„	78				0,85—8,47
Normale Empfänger	742		Leer	77	88			1,2 —9,17
	—		„	99				0,41—8,45
	657		0,006 E. Hp.	136				2,14—2,28
	644		0,004 „	165				3,1 —2,54
	652	159/0,61	7,5 γ norm. HHl.	160	157	Norm. HHl.	10 γ	1,8 —2,87
	705		7,5 „ „	154			≈ 0,0038 E.	2,79—3,28
	—	148/0,83	7,5 „ NaCl-HHl.	158	145	NaCl-HHl.	—	3,63—3,07
	—		7,5 „ „	133				1,78 —3,68

Zusammenfassung Tabelle 4:

Mittelwerte und mittlerer Fehler norm. Empfänger:

$$0{,}006\ \text{E.} = 138 \pm 3{,}84$$
$$0{,}004\ \text{E.} = 141 \pm 12{,}08$$

NaCl-vorbehandelter Empfänger:

$$0{,}006\ \text{E.} = 148 \pm 9{,}92$$
$$0{,}004\ \text{E.} = 129 \pm 8{,}76$$

Bei normalen Empfängern fand sich für:

$$7{,}5\ \gamma\ \text{norm. HHl.} = 151 \pm 2{,}58$$
$$7{,}5\ \gamma\ \text{NaCl-HHl.} = 128 \pm 6{,}2$$

als Zeit der mittleren Ausscheidung.

Bei den Uterusauswertungen entsprachen (geschätzte Mittelwerte):

$$10\ \gamma\ \text{norm. HHl.} = 0{,}0045\ \text{E.}$$
$$10\ \gamma\ \text{NaCl-HHl.} = 0{,}002\ \text{E.}$$

Tabelle 5. HHl.-Untersuchungen nach Kochsalzentzug und Wasserbelastung.

Gewicht der Gruppen	Gewicht des Spenders und dessen HHl. Gewichtsabnahme während des Versuchs	Dosis s. c.	Z. d. m. A. in Minuten		Auswertungsergebnisse		mg/ccm NaCl im 3 Std.- bis 24 Std.-Harn
					Diurese	Uterus	
g	g/mg						
1. 2 Hypophysenspender erhielten bei Entzug jeglicher Nahrung während 4 Tagen täglich 5 ccm 100 g Wasser per os (H_2O-HHl.).							
553	163–117/0,77	7,5 γ H_2O-HHl.	153	152	10 γ = 0,008 E.	10 γ ≈ 0,004 E.	1,75–4,74
754		7,5 „ „	151				2,02–3,77
677	153–116/0,63	7,5 „ „	161	175	10 γ > 0,008 E.	10 γ ≈ 0,005 E.	1,09–1,02
722		7,5 „ „	188				1,64–2,43
683	154/0,7	7,5 „ norm. HHl.	131	148	10 γ < 0,008 E.	10 γ = 0,003 E.	2,22–5,59
705		7,5 „ „	165				1,57–3,43
804	138/0,7	7,5 „ „	155	142	10 γ < 0,008 E.	10 γ ≈ 0,0075 E.	1,67–3,92
628		7,5 „ „	128				2,08–8,48
697		0,006 E. Hp.	151				2,34–4,25
716		0,004 „	144				1,29–6,9
682		Leer	103	108			0,73–6,67
767		„	113				1,08–5,7
2. 3 Hypophysenspender wurden bei täglicher Verabreichung von 5 ccm/100 g Wasser per os während 7 Tagen NaCl-frei (Reis. Verhinderung der Koprophagie) ernährt (H_2O-HHl.).							
673	130/0,69	7,5 γ norm. HHl.	159	167			1,78–3,6
735		7,5 „ „	174				2,95–1,8
765	136/0,47	7,5 „ „	146	137			1,43–4,43
742		7,5 „ „	127				2,08–7,39
830	148/0,65	7,5 „ „	136	137	H_2O-HHl.		1,2 –4,3
706		7,5 „ „	137				0,99–3,61
645	130–125/0,7	7,5 „ H_2O-HHl.	161	164	norm. HHl.	–	1,99–3,79
705		7,5 „ „	167				2,38–1,48
790	146–138/0,68	7,5 „ „	177	160			1,08–3,06
732		7,5 „ „	143				1,53–3,98
752	127–104/0,65	7,5 „ „	155	146			1,52–6,3
771		7,5 „ „	137				1,34–5,59

Zusammenfassung Tabelle 5:
Mittelwerte und mittlerer Fehler: 7,5 γ norm. HHl. – 146 ± 5,08
7,5 γ H_2O-HHl. – 159 ± 5,09

die wohl eine Verminderung des HHl.-Gehalts bewirkte, keine Veränderung der Empfindlichkeit gegenüber antidiuretischer Substanz zur Folge.

IV. Hypophysenhinterlappenuntersuchungen nach Wasserbelastung.

Es lag nun nahe, in einer entgegengesetzten Versuchsanordnung, d. h. nach kochsalzfreier Ernährung (Reis, Verhinderung der Koprophagie) und Wasserbelastung (5 ccm je 100 g Tiergewicht täglich) zu untersuchen, ob dem vorher gesehenen entsprechend sich eine Vermehrung des Gehalts

finden würde. Nach 4–7 Tage dauernder Vorbehandlung zeigte sich zwar eine geringe Vermehrung der diureseverzögernden Wirkung gegenüber den normalen HHl. (Tabelle $5_{1,2}$); die Differenz war jedoch nicht signifikant*, d. h. es war in 11 Versuchen bereits ein Zufallswert enthalten.

G. Kuschinsky (7) konnte dagegen an einer größeren Anzahl HHl. 24 Stunden nach einmaliger „Wässerung" mit 5 ccm je 100 g eine deutlichere Steigerung der antidiuretischen Wirksamkeit feststellen. Hier fand sich, daß „der beobachtete Unterschied nicht mehr als einmal in 20 Versuchen durch Zufall bedingt war". Die Differenz war somit signifikant.

Besprechung der Ergebnisse.

Wie eingangs erwähnt, wurde in erster Linie Wert auf die Auswertung von Hinterlappensubstanz gelegt. Die HHl.-Gewichte können bei den kleinen Mengen keinen Anspruch auf weitgehende Genauigkeit erheben; andererseits kann die abgewogene Menge genau dosiert werden. Es kann aber auch bei Berücksichtigung der bei der Präparation unvermeidlichen Substanzverluste sicher so viel ausgesagt werden, daß der Gesamthormongehalt in vielen der untersuchten Drüsen verschieden war. Der Gesamthormongehalt wurde also abweichend von den Befunden von A. Simon (3) nicht bei allen Tieren annähernd konstant gefunden.

Das wechselnde Verhalten der Diuresetiere an verschiedenen Versuchstagen gegenüber der gleichen Dosis stellt, wie aus der folgenden Tabelle 6 hervorgeht, einen Faktor dar, der auch durch systematische Auswechslung der Gruppen im Kreuzversuch nicht auszumerzen ist. Einzelergebnisse sind daher nicht brauchbar. Erst im Durchschnitt einer größeren Anzahl von Versuchen ist zu erwarten, daß diese Schwankungen ausgeglichen werden.

Tabelle 6. Ergebnisse bei zwei Tiergruppen ohne und nach Applikation der gleichen Dosis Hypophysin an verschiedenen Tagen.

Datum	Tier 89–92 0,006 E. Hypoph. s. c. (Z. d. m. A.)	Tier 93–96 0,004 E. Hypoph. s. c. (Z. d. m. A.)
12. 1.	135 Minuten	143 Minuten
18. 1.	140 „	124 „
21. 1.	146 „	139 „
26. 1.	119 „	121 „
1. 2.	167 „	—
	Leer	Leer
1. 2.	— Minuten	131 Minuten
9. 2.	126 „	103 „

* Siehe J. H. Burn: Biologische Auswertungsmethoden, S. 22 u. 215. Berlin, Jul. Springer, 1937.

Der Grund hierfür ist möglicherweise in der ungleichmäßigen Zusammensetzung des Mischfutters und dessen Verteilung auf die einzelnen Tiere zu suchen. Ferner könnten ungleiche Resorptionsbedingungen nach der Injektion für den wechselnden Effekt verantwortlich gemacht werden. Wohl aus den gleichen Gründen sind die bei einigen Versuchen ausgeführten Chloridbestimmungen für die Auswertung nicht verwendbar. Sie sollen lediglich deshalb mit aufgeführt werden, weil aus ihnen die harnkonzentrierende Wirkung von HHl.-Extrakten überhaupt ersichtlich ist.

In den Kochsalzversuchen war in 4 von 5 angestellten Versuchen sowohl der pressorische als auch der oxytocische Faktor nach Kochsalzbelastung während 5–7 Tagen vermindert vorhanden. Die applizierten Kochsalzdosen waren dabei keineswegs unphysiologische, da, wie sich später bei anderen Arbeiten im gleichen Institut herausstellte, Ratten auch spontan ähnliche Kochsalzmengen zu sich nehmen, wenn sie dabei genügend Trinkwasser erhalten. Eine Herabsetzung des Hormongehalts als Ausdruck einer allgemeinen Gewebsschädigung durch Überdosierung ist deshalb nicht anzunehmen. Sieht man nun in der Verminderung des Gehalts die Folge einer vermehrten Sekretion [Simon (3)], dann wäre dieses Verhalten mit der Eigenschaft des HHl.-Wirkstoffes, das Chlorid im Harn zu konzentrieren, als zweckmäßig erklärbar [Starling und Verney (8)]. Es würde also wie bei den von A. Simon (3) angestellten Durstversuchen durch Regulierung der Sekretion des HHl. Wasser eingespart. Es muß aber hervorgehoben werden, daß den Tieren während der Behandlungszeit in hinreichenden Mengen Trinkwasser zur Verfügung stand, so daß hier von einem durstähnlichen Zustand nicht gesprochen werden konnte. Es ist also durchaus möglich, daß Hormongehalt und Sekretion parallel gehen, die Gründe für die Verminderung des Hormongehalts aber nicht durch unsere bisherigen Kenntnisse zu erklären sind. Aus der Tatsache, daß die in gleicher Weise mit Kochsalz vorbehandelten Empfängertiere sich gegenüber Hypophysingaben sowie im Leerversuch wie die normalen Kontrollen verhielten, geht hervor, daß die akute Wirkung der letzten Kochsalzgabe (etwa 20 Stunden vor Versuchsbeginn), nach der eine Verminderung bzw. Aufhebung der antidiuretischen Wirkung von HHl.-Extrakten zu erwarten gewesen wäre [Brunn (9)] zur Zeit des Versuchs bereits abgeklungen war.

Über das Verhalten des HHl. nach einmaliger intravenöser Kochsalzbelastung liegen nur zwei Auswertungsergebnisse im Diureseversuch vor. Die einmalige Einwirkung schien hier noch keinen Effekt auf den HHl.-Gehalt zu haben. Es sind auch bei diesen kurzfristigen Veränderungen im Wasserhaushalt keine mit unseren Methoden erfaßbaren Abweichungen des Hormongehalts von der Norm zu erwarten, wenn in Betracht gezogen wird, daß schon im Verhältnis zum Gesamtgehalt von 0,6—0,8 E. verschwindend geringe Mengen (beispielsweise 0,006 E.) genügen, um einen nachhaltigen Effekt auf den Wasserwechsel auszuüben. Selbst eine weit

stärkere Sekretion und damit Veränderung des Gehalts als die oben angenommene wäre noch nicht mit den angewandten Auswertungsmethoden erfaßbar, da die physiologische Streuung erst bei Veränderungen der Dosen um 20% und mehr eindeutige Unterschiede der Versuchsergebnisse zeitigen würde, denn die mittlere Abweichung beträgt im Diureseversuch nach Burn 12%.

Die Vermehrung des HHl.-Gehalts nach Kochsalzentzug und Wasserbelastung während 4—7 Tagen war in den eigenen Versuchen nicht eindeutig. Jedoch bestätigen die aus einer größeren Anzahl von Versuchen gewonnenen Ergebnisse von G. Kuschinsky (7), daß eine „Wässerung" zu einer Vermehrung des Hormongehalts führt.

Zusammenfassung.

Die HHl. normaler männlicher weißer Ratten wiegen unabhängig vom Körpergewicht 0,47—1,25 mg. Ihr Gehalt an antidiuretischer und Uteruswirksamkeit entspricht ihrem Gewicht.

Der Gehalt an antidiuretischer Wirksamkeit (Vasopressin) von 1 mg frischer HHl.-Substanz entspricht 0,9 V.-E. (= 0,45 mg Standardpulver).

Das uteruswirksame Prinzip (Oxytocin) verhält sich im allgemeinen zum antidiuretischen (Vasopressin) wie 1 : 2.

Nach Kochsalzbelastung während 5—7 Tagen findet sich eine Verminderung beider Prinzipien etwa um die Hälfte.

Kochsalzbelastung erzeugt keine Veränderung der Empfindlichkeit gegen antidiuretische Substanz.

Nach Kochsalzentzug und Wasserbelastung während 4—7 Tagen wurde keine eindeutige Vermehrung des antidiuretischen Faktors beobachtet.

Literatur.

1) Hesse, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 43 (1925). — 2) Pak, C.: Ebenda **114**, 354 (1926). — 3) Simon, A.: American J. Physiol. (Brit.) **107**, 220, (1934). — 4) Gilman u. Goodman: Ebenda **90**, 113 (1937). — 5) Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Jul. Springer, 1937. — 6) Marx, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 526 (1936). — 7) Kuschinsky, G.: Ebenda **192**, 536 (1939). — 8) Starling u. Verney: Proc. roy. Soc. London, Ser. B: Biol. Sci. **97**, 321 (1925). — 9) Brunn: Z. exper. Med. **25**, 170 (1921).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Über die zentral erregende Wirkung des Alkaloides Cathin.

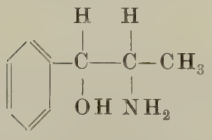
Von

Franz Th. v. Brücke.

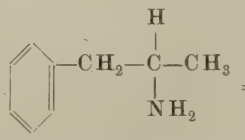
Mit 1 Textabbildung (6 Einzelbildern).

(Eingegangen am 23. Juni 1941.)

Vor kurzem[1] wurde darauf hingewiesen, daß die Beschreibung verschiedener Beobachter über die Wirkungen des arabischen Genußmittels „Kat" gut mit der Annahme übereinstimmen, es könnte das wirksame Prinzip ein zentral erregendes Phenylalkylamin von der Art des Benzedrins oder Pervitins sein. Die jungen Blätter und Triebe des Katstrauches (Catha edulis) werden in Südarabien in Bündeln zu je 30—40 Stück frisch auf den Markt gebracht und entweder gekaut, oder in getrocknetem Zustand zur Teebereitung verwendet, doch scheint die erste Form des Gebrauches heute vorzuherrschen. Aus der getrockneten Droge wurde tatsächlich (1929) durch O. Wolfes[2] ein Alkaloid isoliert, das in seinem Schmelzpunkt (77°), seiner optischen Rechtsdrehung $[\alpha]_D^{20^0} = +42{,}33^0$, und seinem Absorptionsspektrum mit d-nor-Pseudoephedrin identisch ist. Dieses Alkaloid wurde von Nagai und Kanao[3] synthetisiert, von den gleichen Autoren, sowie von S. Smith[4] wurde der Stoff auch aus der chinesischen Ephedradroge „Ma-Huang" gewonnen. Die beifolgende Formel zeigt,



= Cathin,



= Benzedrin.

daß sich das Cathin von Benzedrin nur durch das Vorhandensein einer OH-Gruppe am α-C-Atom unterscheidet. Durch die freundliche Vermittlung von Herrn Prof. H. Kreitmair[5], der in unveröffentlichten Versuchen die im wesentlichen ephedrinartige Wirkung des Alkaloids festgestellt hatte, erhielten wir 0,1 g des von Wolfes aus der getrockneten Droge gewonnenen Cathinsulfats.

Zur Feststellung der zentral erregenden Wirkung kamen bei der geringen Substanzmenge nur Versuche an kleinen Säugetieren (Mäusen)

---

[1] Brücke, F.: Münch. med. Wschr. Nr. 19, 544 (1941). — [2] Wolfes, O.: Arch. Pharmaz. **268**, 81 (1930). — [3] Nagai, W., u. Kanao: Liebigs Ann. **470**, 157 (1929). — [4] Smith, S.: J. Chem. Soc. (London) **51** (1928). — [5] Zitiert nach O. Wolfes, l. c.

in Frage. Wie die meisten Untersucher verwendeten auch wir Veränderungen in der spontanen Motorik der Tiere als Maß für die zentrale Erregung.

In Übereinstimmung mit F. Hauschild[6] konnten wir feststellen, daß Untersuchungen mit einem aufgehängten Zitterkäfig (Aktographen) die zuverlässigsten Resultate liefern. Zunächst wurde wegen ihrer Einfachheit auch die Methode von A. W. Forst[7] herangezogen, bei der die Lauf- und Wischspuren, die Mäuse auf berußtem Papier zurücklassen, zur Beurteilung ihrer Bewegungen dienen. Schon Forst hat allerdings darauf hingewiesen, daß man mit dieser Methode nur Übersichtsresultate erhält. Wir fanden sie vor allem deshalb der Methode mit dem Zitterkäfig unterlegen, weil die Beschmutzung mit Ruß für Mäuse ein Anreiz zu erhöhter Bewegungsunruhe ist. Die Verwendung eines labil aufgestellten Tellers, der bei Laufbewegungen der Maus elektrische Kontakte schließt, gestattet zwar eine zahlenmäßige Angabe über die „Erregung" der Tiere, bringt aber alle Bewegungen, die an Ort und Stelle vor sich gehen (Putzen, Schnuppern, Aufrichten an der Käfigwand usw.) nicht zum Ausdruck.

Wir verwendeten einen aus dünnen Messingstäben gefertigten kugelförmigen Käfig von 16 cm Durchmesser, der in der Äquatorialebene eine Platte enthielt, auf der sich die Maus bewegte, die durch eine kleine Tür in den Käfig gebracht worden war. Der Käfig wurde an einer 0,8 mm starken, in sechs Spiraltouren gelegten Klaviersaite aufgehängt. In der Äquatorebene waren vier Haltefäden angebracht, die unterhalb des Käfigs miteinander verknüpft waren und dessen Bewegungen über einen Schreibhebel[8] auf ein Kymographion übertrugen.

Bringt man eine normale Maus in diesen Käfig, so zeigt sie sich zunächst etwa 10 Minuten lang sehr unruhig, läuft umher, nagt an den Stäben und richtet sich häufig auf. Nach dieser Zeit beruhigt sich das Tier jedoch fast immer (dauernd unruhige Tiere müssen vom Versuch ausgeschaltet werden) und bleibt nun 1 Stunde und länger unter gelegentlichem Putzen, oder kurzen Laufbewegungen ruhig im Käfig sitzen, vorausgesetzt, daß die Raumtemperatur nicht zu niedrig ist und der Versuch nicht durch äußere Reize gestört wird. Nimmt man die Maus heraus, injiziert subcutan Wasser, oder eine andere indifferente Lösung und bringt sie dann in den Käfig zurück, so bleibt sie vollkommen ruhig. Wird dagegen eine wirksame Menge eines zentral erregenden Phenylalkylamins injiziert, dann tritt nach einer bestimmten Latenzzeit (etwa 10 Minuten), allmählich stärker werdend, eine Unruhe zutage, die sich in raschen Umdrehungen an Ort und Stelle, hastigem Laufen im Käfig und verstärkten Putzbewegungen äußert. Schließlich treten pausenlose Bewegungen auf, die mehrere Stunden anhalten können. Besonders kennzeichnend ist nach Injektion großer Dosen der erregenden Stoffe eine anfänglich vollkommene Unbeweglichkeit der Tiere, die erst allmählich in die erhöhte Bewegungsunruhe übergeht. Dieses Phänomen hat schon R. Stockman[9] für das von ihm untersuchte Alkaloid Cathin festgestellt, es gilt aber genau so für Ephedrin und Pervitin. Als Ursache für diese paradoxe Ruheperiode kann wohl die Kreislaufwirkung angesehen werden, die die Injektion hoher Dosen von Phenyl-

[6] Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1938). — [7] Forst, A. W.: Ebenda **189**, 283 (1898). — [8] Brücke, F. Th., u. H. Sarkander: Ebenda **195**, 79 (1940). — [9] Stockman, R.: J. Pharmacol. (Am.) 1912, S. 251.

alkylaminen begleitet: Erst mit dem Abklingen der Blutdrucksteigerung, der reflektorischen Vaguswirkung usw. kann die zentral erregende Wirkung sich durchsetzen.

Von einer Vorbehandlung der Mäuse mit kleinen Bromdosen oder mit anderen Sedativa wurde nach einigen Vorversuchen abgesehen, weil sie die Sicherheit der Beurteilung nicht steigern. Wichtig ist es nur, die Beobachtungszeit vor der Injektion eines zentral erregenden Stoffes genügend lange (mindestens 20 Minuten) auszudehnen. Die Ruheperioden zeigen allerdings nicht in ihrem ganzen Verlauf so völlige Bewegungslosigkeit wie in Beispiel 1 und 3 der Abbildung, aber ein Tier, das sich zu irgendeiner Zeit während des Versuches derart ruhig verhält, kann immer als „Normaltier" bezeichnet werden. Wir haben auch grundsätzlich darauf verzichtet, Grenzwerte der zentralen Erregung für die einzelnen untersuchten Stoffe zu bestimmen, sondern nur solche Dosen gewertet, die eine sichere Wirkung ausüben.

Für Pervitin fanden wir als immer wirksame Dosis (Abb. 1, oberste Kurve) 1 γ/g. Mit 0,5 γ/g kann man wohl auch gelegentlich schwache Erregung beobachten, doch war diese im allgemeinen zu unsicher. F. Hauschild hat bei intraperitonealer Verabreichung noch 0,1—0,2 γ g als wirksam gefunden, also $^1/_{10}$—$^1/_5$ der hier als sicher wirksam bezeichneten Dosis. Cathinsulfat hat in derart kleinen Mengen keine erkennbare Wirkung. Erst bei subcutaner Injektion von 100 γ/g (Kurve 3, Abb. 1) tritt eine mit der sicher wirksamen Pervitindose vergleichbare Unruhe ein; 50 γ/g waren meist wirkungslos. Das von O. Wolfes[2] isolierte Alkaloid aus Catha edulis wirkt demnach etwa 100mal schwächer als Pervitin.

Es war deshalb naheliegend, das Cathin eher mit den in verschiedenen Ephedraarten natürlich vorkommenden Alkaloiden l-Ephedrin und d-Pseudoephedrin zu vergleichen, als mit den stark wirksamen Stoffen der Benzedrin-Pervitingruppe. Besonders d-Pseudoephedrin steht dem Cathin chemisch sehr nahe. Um so überraschender war daher der Befund, daß dieses Alkaloid bis zur tödlichen Dosis jede zentrale Erregung vermissen läßt, während sie bei Cathinsulfat mit der Dosis sehr stark zunimmt und in heftigem Zittern des Kopfes, hohen Sprüngen bei Berührung der Tiere, raschem, von Sprüngen unterbrochenem Laufen zum Ausdruck kommt. Dabei trat, ähnlich wie dies Stockman[9] mit seinem chemisch nicht genau definierten Cathin beobachtet hatte, Ataxie ein, so daß die Tiere gegen im Wege stehende Hindernisse anstießen. l-Ephedrin hat, wie man seit längerer Zeit weiß, ebenfalls erregende Wirkungen auf das Zentralnervensystem. In unseren Versuchen war seine Wirksamkeit der des Cathins sehr ähnlich. Als sicher wirksame Grenzdosis können auch von l-Ephedrin 100 γ/g angesehen werden, obwohl in einigen Fällen schon nach 50 γ/g Erscheinungen von gesteigerter Bewegungsunruhe eintraten. In Abb. 1, Nr. 2, ist die Wirkung von 250 γ/g zu sehen: Die Bewegungen sind hier ausgiebiger, aber etwas weniger frequent als bei Cathin oder Pervitin.

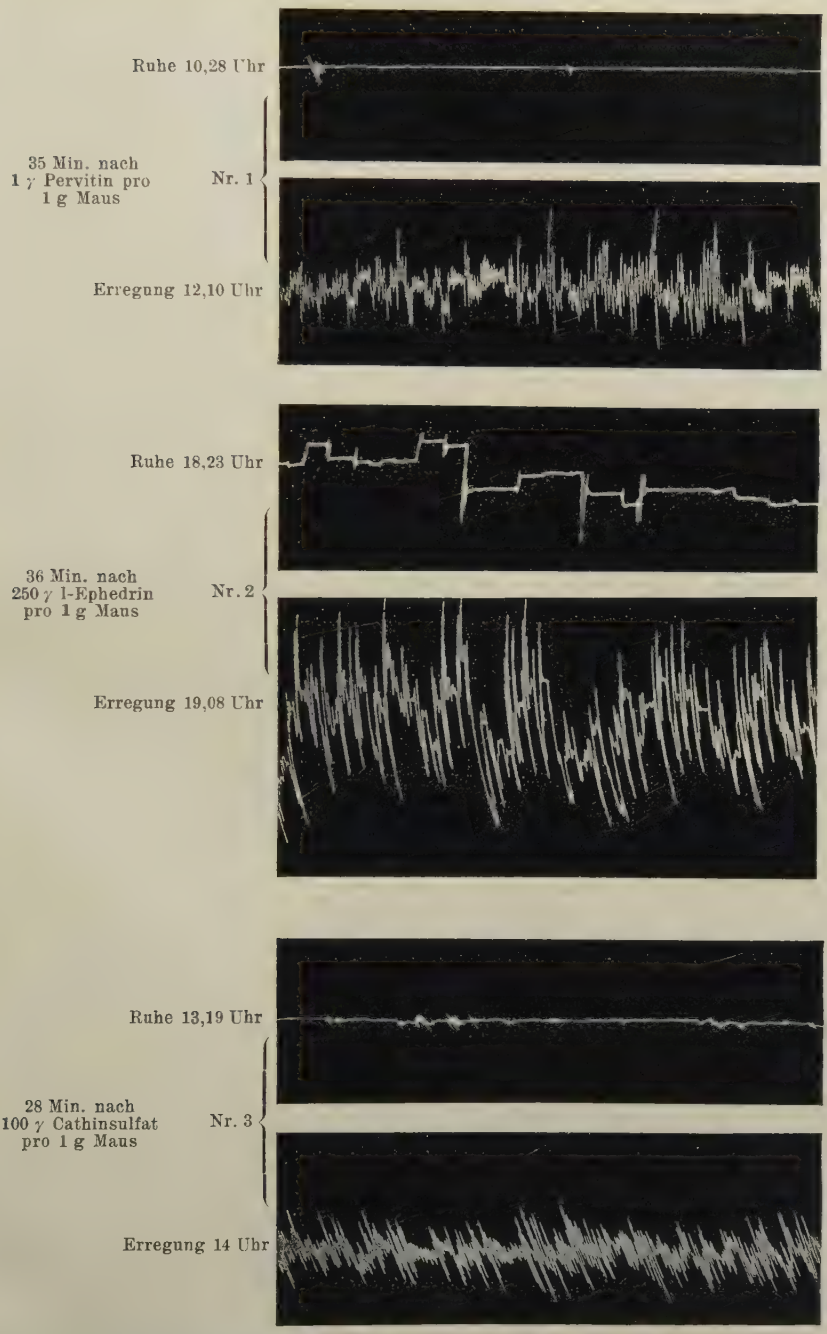


Abb. 1. Die erregende Wirkung von Pervitin, l-Ephedrin und Cathinsulfat nach Bewegungskurven, die mit dem Zitterkäfig an weißen Mäusen aufgenommen wurden. Je zwei, durch eine geschlungene Klammer zusammengefaßte Kurven (Nr. 1, 2 und 3) entstammen einem Versuch an der gleichen Maus; und zwar stellt immer die obere Kurve eine Periode von 4 Minuten Dauer aus der Zeit vor Injektion des erregenden Stoffes dar, die untere Kurve eine gleich lange Periode auf der Höhe der zentral erregenden Wirkung.

Die geringe zentrale Wirkung des Cathins konnte auch in Selbstversuchen bestätigt werden: 10 mg der Substanz per os genommen blieben ohne jede Wirkung. Hierauf wurden im Abstand von 1 Stunde zweimal je 20 mg Cathinsulfat unter die Haut des Vorderarmes eingespritzt. Auch hiernach trat eine sichere zentrale Erregung nicht ein. Sie war jedenfalls nicht stärker als nach einer Tasse Kaffee und der Schlaf in der darauffolgenden Nacht (das Alkaloid wurde um 6 Uhr abends verabreicht) war in keiner Weise gestört.

Schließlich wurde noch in einem Blutdruckversuch an einer dekapitierten Katze die Wirkung des Cathins mit Adrenalin und Ephedrin verglichen. 3 mg Cathinsulfat riefen intravenös gegeben eine Blutdrucksteigerung von 60 auf 76 mm Hg hervor (+ 16 mm). Vorher hatten 3 γ Adrenalin eine solche von 60 mm Hg auf 74 mm Hg (+ 14 mm), und 5 γ Adrenalin eine Drucksteigerung von 60 auf 92 mm Hg (+ 32 mm) bewirkt. Cathinsulfat ist demnach etwa 1000mal weniger wirksam als Adrenalin und daher nach den Angaben der Literatur halb so wirksam als l-Ephedrin. Die Blutdrucksteigerung nach Cathin hielt 10 Minuten lang völlig unverändert an, war also von ephedrinartigem Typus. Eine nachfolgende intravenöse Injektion von l-Ephedrin (3 mg) steigerte den Blutdruck nur von 74 auf 96 mm Hg (nur + 22 mm). Es muß demnach schon durch die erste Cathininjektion eine beträchtliche Tachyphylaxie hervorgerufen worden sein. 11 Minuten nach der Ephedrininjektion wurde neuerlich Cathinsulfat (6 mg) injiziert, dessen Wirkung nach einem rasch vorübergehenden Blutdruckanstieg bereits rein blutdrucksenkend war. Der Druck sank von 96 auf 86 mm Hg (− 10 mm). Cathinsulfat hat demnach eine ephedrinähnliche Blutdruckwirkung mit besonders stark hervortretender Tachyphylaxie.

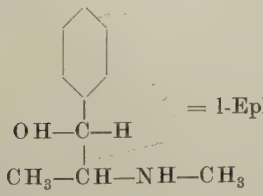
Besprechung der Ergebnisse.

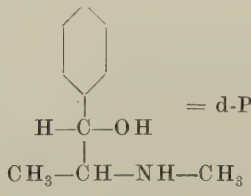
Als Hauptergebnis unserer Untersuchung können wir feststellen, daß d-nor-Pseudoephedrin (Cathin) keine stärkere zentral erregende Wirkung besitzt als l-Ephedrin, daß es also nicht für die wach erhaltende und anregende Wirkung des Genußmittels Kat bzw. des Kattees verantwortlich sein kann. Leloup[10] hat schon 1890 beobachtet, daß ein Tee aus 3 bzw. 15 g frischer Blätter von Catha edulis bei einer Näherin das Schlafbedürfnis in zwei aufeinanderfolgenden Nächten völlig beseitigte. Auch bei einem Medizinstudenten hatte der Aufguß aus einer kleinen Handvoll frischer Blätter die gleiche Wirkung. Bei einer durch Überarbeitung geschwächten Patientin steigerte der Tee die Leistungsfähigkeit zu körperlicher Arbeit auffällig. Eine 74jährige Kranke konnte nach Einnahme des Tees eine Landpartie unternehmen usw. Solche Wirkungen erinnern, wie ich an

[10] Leloup: Bull. général de therapeutique **119**, 216 (1890).

anderer Stelle betont habe, durchaus an Wirkungen des Pervitin bzw. des Benzedrin. Da nun Beitter[11] (1890) den Alkaloidgehalt der getrockneten Droge zu 0,02—0,05 % bestimmt hat, kann das von Wolfes aus dieser Droge isolierte Cathin nach unserer Untersuchung nicht in genügender Menge in frischen Katblättern vorhanden sein, um erregende Wirkungen zu verursachen. Demnach bleibt nur anzunehmen, daß im Katblatt noch mindestens ein stärker wirksamer Stoff vorhanden sein muß, der möglicherweise beim Trocknen der Droge verlorengeht. Damit würde übereinstimmen, daß Stockman[9] in einem Selbstversuch mit getrockneten Katblättern, aus denen er einen Tee bereitete, keine Wirkung beobachtet hat. Schon früher wurde darauf hingewiesen, daß der gesuchte Stoff Benzedrin selbst sein könnte, das sich nur durch Fehlen der OH-Gruppe am α-C-Atom von Cathin unterscheidet. Durch das Fehlen der OH-Gruppe wird das Alkaloid (als Base) erheblich flüchtiger und könnte unter Umständen deshalb beim Trocknungsprozeß verlorengehen. Voraussichtlich muß durch Ersatz der OH-Gruppe im d-nor-Pseudoephedrin (Cathin) durch ein H-Atom d-Benzedrin entstehen, doch ist dieser Punkt pharmakologisch nicht wichtig, da sowohl d-, als auch l-Benzedrin stark zentral erregend wirken.

Wir finden jedenfalls beim Cathin, das zu Benzedrin in einem ähnlichen Verhältnis steht wie Ephedrin zu Pervitin, die von F. Hauschild[12] aufgestellte Regel bestätigt, daß der Eintritt einer OH-Gruppe am α-C-Atom die zentrale Wirkung solcher Phenylalkylamine stark abschwächt. Auffällig ist es jedoch, daß der Übergang des primären Amins Cathin in das sekundäre Amin d-Pseudoephedrin, die zentrale Wirkung völlig verschwinden läßt. Hauschild hat im allgemeinen keinen starken Unterschied zwischen primären und sekundären Aminen in dieser Richtung gefunden,


= l-Ephedrin,


= d-Pseudoephedrin.

stellt aber fest, daß eine weitere Belastung des N-Atoms, also der Übergang zum tertiären Amin die zentrale Wirkung erheblich vermindert. Bei dem durch die Anwesenheit der OH-Gruppe am α-C-Atom schon an und für sich wenig zentralerregenden Cathin scheint dagegen schon der Übergang zum sekundären Amin von Bedeutung zu sein. Hervorzuheben ist auch der auffallende Unterschied zwischen der Gehirnwirkung des l-Ephedrins

[11] Beitter, A.: Dissertation Straßburg 1890. — [12] Hauschild, F.: Naunyn Schmiedebergs Arch. **195**, 647 (1940).

und des d-Pseudoephedrins (dessen geringere Kreislaufwirkung durch Pak und Read[13] festgestellt wurde). Die beiden Alkaloide geben nämlich bei Reduktion der OH-Gruppe das gleiche Desoxyephedrin, unterscheiden sich demnach nur durch die Konfiguration am α-C-Atom (s. Formel). Zum Schluß sei noch auf die starke Tachyphylaxie des Cathins hingewiesen.

Zusammenfassung.

Das von O. Wolfes aus dem arabischen Katstrauch (Catha edulis) isolierte Alkaloid Cathin kann nicht die Ursache für die zentral erregende Wirkung dieses Genußmittels sein, da es nicht stärker erregend wirkt als l-Ephedrin. Ein stärker wirksames Alkaloid (vielleicht Benzedrin) geht wahrscheinlich beim Trocknen der Droge verloren. Cathin hat eine ephedrinartige Blutdruckwirkung mit starkem Hervortreten der Tachyphylaxie.

[13] Pak u. Read: Zit. nach F. Hauschild, l. c.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Gewöhnung des Meerschweinchendarms an Morphin.

Von

Ed. Rentz und **D. N. Kesarbani** (Dehradun, Indien).

Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern).

(Eingegangen am 31. Mai 1941.)

Über die Wirkung des Morphins auf den Darm morphingewöhnter Tiere (Hund, Kaninchen, Meerschweinchen) sind nur die folgenden, zum Teil widersprechenden Angaben bekannt:

van Egmond[1] wie auch Reach[2] konnten an je einem morphingewöhnten Hunde zeigen, daß das Morphin die Entleerungszeit des Magendarmkanals deutlich schwächer beeinflußt als beim ungewöhnten Tier, und van Dongen[3] stellte für den Hund die folgende Reihe auf, die mit dem Zentrum beginnt, das am schnellsten gewöhnt wird, und mit demjenigen endigt, das überhaupt nicht gewöhnt werden kann: Pupille, Brechen, Kotentleerung, Narkose, Atemzentrum, Magenentleerung, Vaguszentrum. Anschließend könnte hier auch das Wärmeregulationszentrum genannt werden, da die Körpertemperatur stets erniedrigt wird[4]. Demgegenüber kommen Miller und Plant[5] zum Ergebnis (Thiry-Vella-Fistel, Ballonmethode), die Darmtätigkeit des Hundes lasse sich überhaupt nicht an Morphin gewöhnen. Am isolierten und künstlich durchströmten Dünndarm des Hundes kommt die normal darmlähmende Wirkung des Morphins (Injektion ins Blutgefäß) nicht ausgeprägt zum Vorschein, oder, wenn sie deutlich eintritt, verschwindet sie rasch wieder, um einer anhaltenden erregenden Wirkung Platz zu machen (Kobayashi[6]). Was das chronisch morphinisierte Kaninchen betrifft, so verhält sich dessen isoliert durchströmter Darm gleich dem des Hundes[6]. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Tomono[7] und Suo[8]. Hingegen lassen sich nach van Dongen[3], Tatum, Seevers und Collins[9], sowie Tourniers[10] Kaninchen überhaupt nicht an Morphin gewöhnen. Dementsprechend zeigen die morphinbehandelten Tiere bei plötzlichem Entzug des Giftes auch keine Abstinenz-

---

[1] van Egmond, A. A. J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **65**, 197 (1911). — [2] Reach, F.: Z. exper. Path. u. Ther. **16**, 321 (1914). — [3] van Dongen, K.: Pflügers Arch. **162**, 54 (1915). — [4] Downs, A. W., u. N. B. Eddy: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **13**, 739 (1928); zit. nach den Ber. Physiol. **46** (1928). — [5] Miller, G. H., u. O. H. Plant: J. Pharmacol. (Am.) **28**, 24 (1926). — [6] Kobayashi, A.: Jap. J. med. Sci., Pharmacol. **4**, 189 (1930). — [7] Tomono, M.: Mitt. med. Ges. Tokyo **44**, 944 (1930). — [8] Suo, M.: Keijo J. Med. **3**, 219 (1932). — [9] Tatum, A. L., M. H. Seevers u. K. H. Collins: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 447 (1929). — [10] Tourniers, P.: Diss. Genf 1928 u. Trav. Lab. Thér. exper. Univ. Genève **12** (1929); zit. nach den Ber. Physiol. **55** (1930).

erscheinungen[11]. Über Versuche mit Meerschweinchen kennen wir nur die Arbeit von Lévy und Cahen[12], wonach die Morphinwirkung am isolierten und nach Magnus suspendierten Dünndarm der Morphintiere im Vergleich zu normalen Darmstücken in 32% der Fälle abgeschwächt ist, in 16% ganz fehlt und in 52% umgekehrt wird, d. h. sich als Tonussteigerung äußert.

Daß Meerschweinchen hinsichtlich der zentralanalgetischen Wirkung an Morphin gewöhnt werden können, hat bereits Amsler[13, 14] gezeigt. Seine Versuchstiere erhielten täglich 0,1 g/kg Morphin subcutan, und die Gewöhnung trat dann im Frühling in etwa 18–20, im Herbst in etwa 30 Tagen ein[14, 15]. Die Auslösung von Schmerzen erfolgte mit konstantem, schwachem faradischen Strom, und zwar wurde die Haut zwischen den Schulterblättern jede halbe Stunde nach der Morphininjektion zweimal in der Sekunde gereizt. Volle Wirkung des Morphins, d. h. volle Unempfindlichkeit für Schmerzreize nahm man an, wenn 100 Reize weder Schreien noch Abwehrbewegungen auslösten; Gewöhnung dann, wenn auf der Höhe der Morphinwirkung bereits nach 10 und weniger Reizen Schmerzäußerungen folgten. Stender und Amsler[14] haben ferner festgestellt, daß auch eine Gewöhnung an die durch Morphin erzielbare periphere Sensibilisierung der reflexsensiblen Innervation der Hornhaut für die anaesthesierende Wirkung des Kokains zustande kommt (Prüfung mit einem Reizhaar), daß jedoch diese Gewöhnung erst viel später eintritt als jene an die analgetische Wirkung. Die Tatsache ferner, daß die kortikale und periphere Wirkung des Morphins, wie Stender und Amsler[14] gezeigt haben, nicht parallele Erscheinungen sind, indem diese mehrere Tage bis mehrere Wochen länger anhält als jene, wird von den Autoren als zwingender Beweis dafür angesehen, daß die Gewöhnung überhaupt eine zellulär bedingte Erscheinung ist, eine Auffassung, die auch durch andere Beobachtungen gestützt wird. Nach den Untersuchungen von Faust[16] am Hunde könnte man auch an eine humorale Gewöhnung denken, falls der Meerschweinchenorganismus gleichfalls die Fähigkeit besitzen sollte, im Laufe der Gewöhnung Morphin in steigendem Maße zu zerstören. Nun hat das Morphin am Meerschweinchen bekanntlich eine ganz spezifische peristaltiklähmende Wirkung, die nach Straub und Ozaki[17] schon durch 0,1 mg/kg subcutan erreicht wird, also durch so kleine Mengen, daß deren Wirkung bei Annahme eines gesteigerten Zerstörungsvermögens des Organismus nicht mehr oder nur stark abgeschwächt in Erscheinung treten dürfte.

[11] Hotta, S.: Jap. J. med. Sci., Pharmacol. **6**, 115 (1932). — [12] Lévy, J., u. R. Cahen: C. R. Soc. Biol., Paris, **112**, 167 (1933). — [13] Amsler, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 233 (1931). — [14] Stender, O., u. C. Amsler: Ebenda **160**, 195 (1931). — [15] Matschulan, G.: Ebenda **186**, 113 (1937). — [16] Faust, E. S.: Ebenda **44**, 217 (1900). — [17] Straub, W., u. M. Ozaki: Ebenda **173**, 374 (1933).

Für solche Untersuchungen kommen vor allem die von Straub[18] sowie die von Trendelenburg[19] angegebenen Methoden in Betracht. Beide Methoden benutzen ein funktionierendes Organ, d. h. ein solches, das bei Füllung auf den Dehnungsreiz mit peristaltischen Bewegungen reagiert. Während wir es aber bei der Trendelenburg-Methode mit einem herausgeschnittenen Darmstück zu tun haben, ist das Straub-Präparat humoral und nervös intakt, indem der Darm in situ belassen wird, so daß er nicht ermüdet, weshalb denn auch die Resultate ohne weiteres auf menschliche Verhältnisse übertragbar sind. Schließlich arbeitet das Straub-Präparat, wenn es sich um pharmakologische Fragestellungen handelt, mit absoluten Mengen, das Trendelenburg-Präparat mit Konzentrationen. Die undefinierbaren Pendelbewegungen des Darms in der Anordnung nach Magnus schienen von vornherein für Gewöhnungsversuche ungeeignet zu sein. (Grundsätzliches über die angeführten Methoden ist bei Reiser[20] zu finden.)

Wenn also der Gewöhnung ein humoraler Vorgang zugrunde liegt, war zu erwarten, daß sie nur am Darm in situ auftreten werde (abgeschwächte oder gar keine Wirkung einer Morphininjektion), während das ausgeschnittene Darmstück wie normal reagieren müßte (Peristaltikhemmung durch Morphin).

Versuche.

12 Meerschweinchen mit dem Anfangsgewicht von 325—550 g injizierte man täglich (außer an den eingeschobenen Ruhetagen) zunächst je 25—50 mg/kg, vom 30. Versuchstage ab 75 mg/kg und vom 40. Tage ab je 100 mg/kg Morphinhydrochlorid in 2 ccm Normosallösung subcutan. Insgesamt erhielt so jedes Tier, je nach Körpergewicht und Versuchsdauer, 40—60 Injektionen innerhalb von 50—80 Tagen mit 0,9—1,78 g (in einem Falle 2,6 g) Morphin. Als geeignetste Testdosis zur intravenösen Injektion (die subcutane ergab nicht genügend klare Wirkungen) erwies sich die am nicht vorbehandelten Tier erprobte Menge von 0,1 mg/kg. Die geringste eben noch peristaltikwirksame Morphindosis bei intravenöser Injektion liegt bei 0,01 mg/kg.

Der erste Versuch wurde am 21. Tage nach Beginn der Morphinisierung angestellt. Die Tiere waren zu diesem Zeitpunkt an die zentralanalgetische Wirkung des Giftes bereits gewöhnt und reagierten auf Schmerzreize sogar heftiger als im normalen Zustande, am Darm in situ konnte jedoch eine Abschwächung der Wirkung noch nicht beobachtet werden. Auch noch am 40. Tage war eine solche mit Sicherheit nicht festzustellen. Erst 20 Tage später, also am 60. Tage nach Beginn der Morphinisierung, nahm man die Versuche wieder auf, und nun stellte es sich heraus, daß fast

[18] Straub, W., u. P. Viaud: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 1 (1932). — [19] Trendelenburg, P.: Ebenda **81**, 55 (1917). — [20] Reiser, M.: Ebenda **195**, 604 (1940).

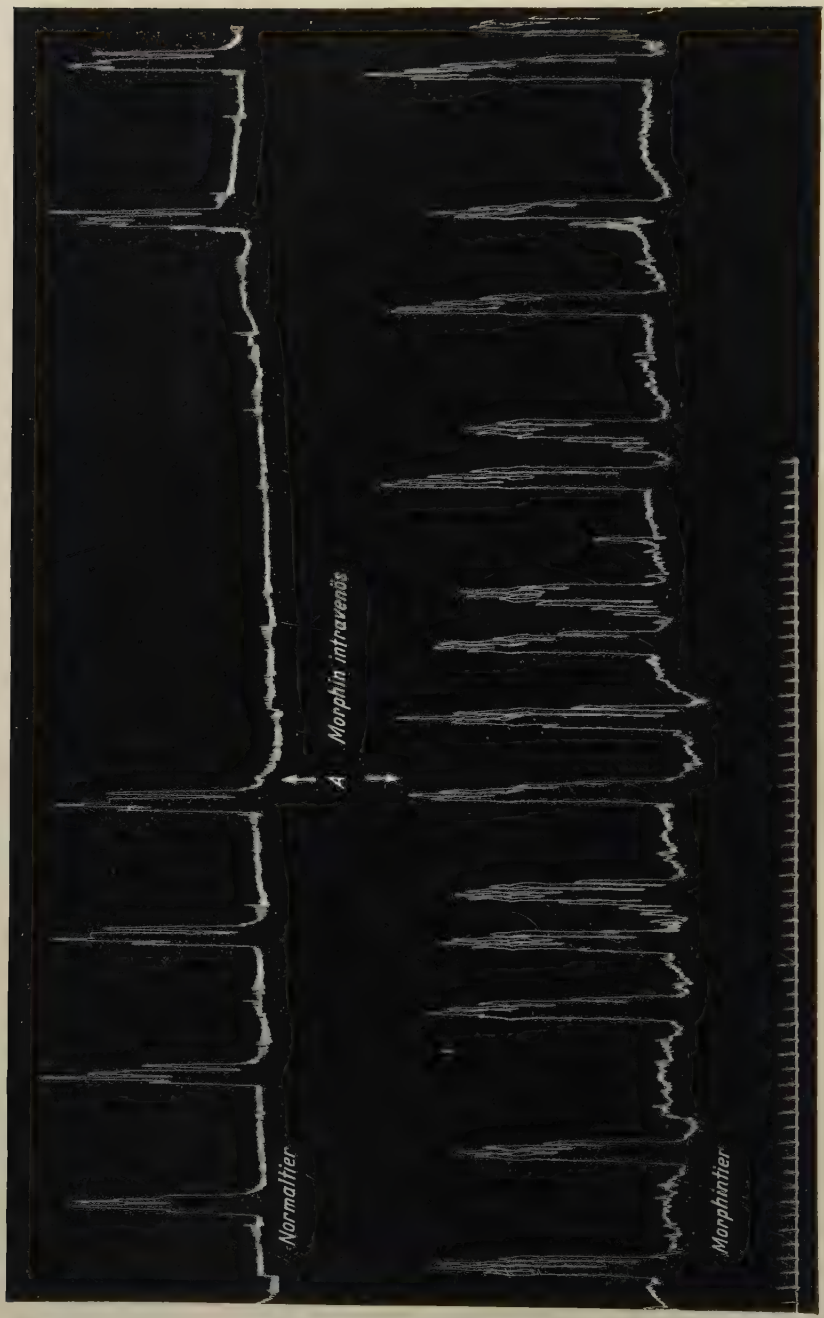


Abb. 1. Meerschweinchendünndarm nach Straub. Oben ein normales Tier, unten ein morphingewöhntes, das in 80 Tagen (52 Injektionen) insgesamt 895 mg Morphin subcutan erhalten hatte. Bei *A* gleichzeitige Injektion von 0,1 mg/kg Morphin intravenös. Füllungsdruck 8 cm Wasser. Zeitmarkierung alle 30 Sekunden.

durchwegs eine Abstumpfung der Empfindlichkeit des isolierten Dünndarms in situ gegenüber dem intravenös injizierten Morphin eingetreten war,

was durch Vergleich mit entsprechenden Versuchen am Darm nicht-vorbehandelter Tiere erhärtet werden konnte (Abb. 1). Hierbei zeigte es sich auch, daß am morphinisierten Tier nicht nur die geringen Dosen von 0,1 mg/kg Morphin unwirksam wurden, sondern daß in mehreren Fällen auch 1—3 mg und sogar 5 mg/kg keine oder fast keine Peristaltiklähmung mehr hervorzurufen imstande waren.

Es erwies sich ferner, daß bei allen Meerschweinchen, an deren Dünndarm in situ nach Straub eine Abschwächung oder ein Ausbleiben der

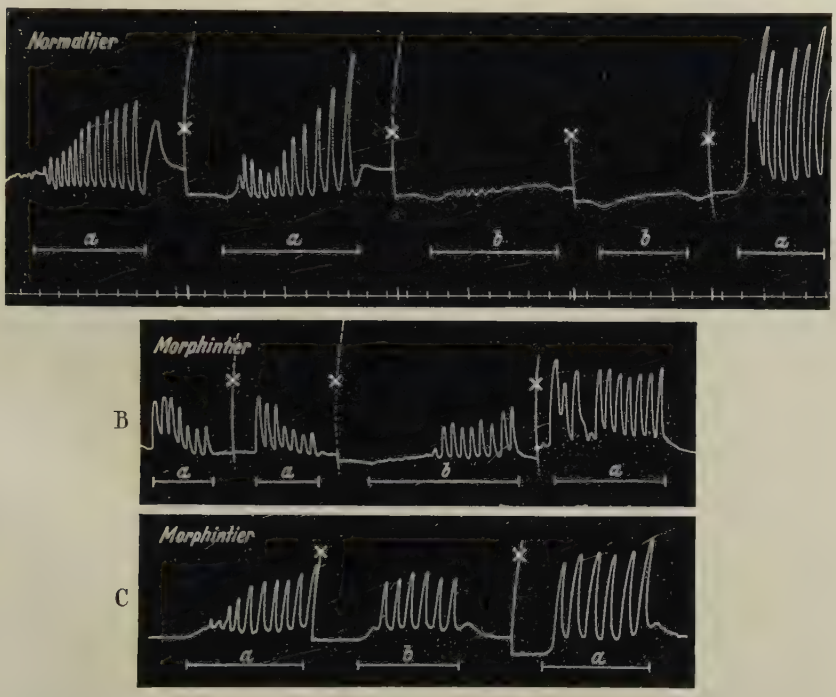


Abb. 2. Meerschweinchendünndarm nach Trendelenburg. *A* = Normaltier; *B* und *C* = Morphintiere: *B* = dasselbe Tier wie in Abb. 1; *C* erhielt innerhalb von 60 Tagen 44 Injektionen mit insgesamt 1490 mg Morphin subcutan. *a* = Peristaltik bei 3 cm Füllungsdruck; *b* = dasselbe nach 1 Minute langer Einwirkung von Morphin (1 : 2 Millionen). Während beim Normaltier Morphin die typische Wirkung hat (Hemmung), ist sie beim Morphintier nur kurz vorhanden (*B*) oder ganz verschwunden (*C*). *X* = Auswaschen. Zeitmarkierung alle 10 Sek.

Morphinwirkung zu beobachten war, sich die gleiche Reaktion auch an herausgeschnittenen Darmstücken nach Trendelenburg zeigte, während die Morphinkurven von Normaltieren stets die von Trendelenburg beschriebene Form hatten (Abb. 2).

Ähnlich verliefen die übrigen Versuche. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß sich unter unseren Tieren 2 befanden, die trotz der Gewöhnung an Schmerzreize keine Darmgewöhnung zeigten, und zwar übereinstimmend sowohl in Versuchen nach der Straub- als auch nach der

Trendelenburg-Methode: die Reaktion war die gleiche wie am normalen Tier. (Das eine Meerschweinchen hatte in 76 Tagen und 51 Injektionen insgesamt 2,6 g (!), das zweite in 66 Tagen und 42 Injektionen insgesamt 1,7 g Morphin subcutan erhalten.) Es fiel auch auf, daß beide refraktären Tiere an Gewicht zunahmen (von 550 g auf 740 g bzw. von 430 g auf 470 g), während die übrigen Morphintiere weniger zunahmen oder sogar an Gewicht verloren. Es gibt demnach beim Meerschweinchen individuelle Unterschiede der Gewöhnbarkeit des Darms an Morphin.

In Versuchen am isolierten Dünndarm in der Anordnung nach Magnus ließen sich zwischen der Reaktion von Darmstücken gewöhnter und nichtgewöhnter Tiere (auf Morphin in der Konzentration 1 : 5000, 1 : 10000 und 1 : 20000) keine deutlichen Unterschiede erkennen. Die Angaben von Lévy und Cahen[12] konnten demnach nicht bestätigt werden.

Geben die Versuche einen Hinweis auf den Mechanismus der Morphingewöhnung?

Wie unsere Versuche mit der Straub-Methode ergeben haben, kommt es bei Meerschweinchen, wenn diese chronisch morphinisiert werden, einige Wochen nach Eintritt der Gewöhnung an Schmerzreize auch zu einer Gewöhnung des Darms an kleine intravenös beigebrachte Morphindosen. Die gleiche Beobachtung konnte aber auch am ausgeschnittenen Darm desselben Tieres nach Trendelenburg gemacht werden, was, wie bereits hervorgehoben, nicht zu erwarten war, wenn es sich bei der Gewöhnung um einen humoralen Vorgang handeln würde. Das stimmt auch mit den Ergebnissen neuerer Untersuchungen überein[21–26], nach welchen die Fähigkeit des Organismus zur Zerstörung des eingebrachten Morphins bei Gewöhnung gar nicht bzw. nicht wesentlich erhöht ist und wonach die „verführerische Hypothese" Fausts fallengelassen werden muß, nachdem schon frühere Untersucher[1, 3, 27, 28] gegen diese Erklärung des Morphinismus verschiedene Einwände erhoben hatten. Bei der Gewöhnung handelt es sich auch nicht um eine Abwehrerscheinung, Anpassung oder Giftfestigkeit und keine Gewebsimmunität, sondern eine Art Vergiftung, zu deren Verständnis die Kenntnis des Morphins als eines Giftes mit Zweiphasenwirkung[9, 28–32] erforderlich ist. Schon Joël und Ettinger[30] wie auch

[21] Pierce, I. H., u. O. H. Plant: J. Pharmacol. (Am.) **46**, 201 (1932). — [22] Keeser, E., H. A. Oelkers u. W. Raetz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 622 (1933). — [23] Wolff, W. A., C. Riegel u. E. G. Fry: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 391 (1933). — [24] Plant, O. H., u. I. H. Pierce: Ebenda **49**, 432 (1933). — [25] v. Issekutz, B., u. M. Varady: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 35 (1934). — [26] Gross, E. G., u. V. Thompson: J. Pharmacol. (Am.) **68**, 413 (1940); zit. nach den Ber. Physiol. **122** (1941). — [27] Cloëtta, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **50**, 453 (1903). — [28] Rübsamen, W.: Ebenda **59**, 227 (1908). — [29] Schön, R.: Ebenda **101**, 365 (1924). — [30] Joël, E., u. A. Ettinger: Ebenda **115**, 334 (1926). — [31] Collins, K. H., u. L. Tatum: J. Pharmacol. (Am.) **27**, 237 (1926). — [32] Wuth, O.: Nervenarzt **6**, 617 (1933). Weiteres hierüber bei Rentz, Ed.: Diss. Riga 1930 u. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **141**, 183 (1929).

Tatum, Seevers und Collins[9] haben den Grund zu dieser Auffassung gelegt, am folgerichtigsten jedoch ist die Theorie von Amsler [13] entwickelt worden, worauf hier jedoch nicht näher eingegangen werden kann. Amslers Annahme, die Morphingewöhnung sei als eine zelluläre Erscheinung zu deuten, kann jedenfalls durch unsere Versuche gestützt werden.

Zusammenfassung.

1. In Versuchen am Dünndarm in situ (Straub-Methode) von Meerschweinchen, denen man über 2 Monate lang fast täglich in ansteigenden Dosen 25—100 mg/kg Morphin subcutan injiziert hatte und die nach der jeweiligen Injektion bereits auf Schmerzreize wieder reagierten, ließ sich zeigen, daß auch die peristaltiklähmende Wirkung intravenös injizierten Morphins (0,1 mg/kg) im Vergleich zum Normaltier abgeschwächt war bzw. ganz ausblieb. Demselben Tier entnommene und nach Trendelenburg suspendierte Darmstücke reagierten in gleicher Weise.

2. Die Ergebnisse der Versuche sprechen dafür, daß hier nicht eine humorale, sondern eine zelluläre Umstimmung der gewöhnten Tiere maßgebend ist. Der Angriffspunkt für die Gewöhnung der Darmmotorik an Morphin liegt vermutlich am Auerbach-Plexus, der ja für die Peristaltik von wesentlicher Bedeutung ist.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Gewöhnungsversuche mit Dolantin am Meerschweinchendarm.

Von

D. N. Kesarbani (Dehradun, Indien).

Mit 4 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 19. Juni 1941.)

Dolantin ist ein synthetischer Stoff (ein Methylphenylpiperidincarbonsäureäthylester), der spasmolytisch und analgetisch wirkt und sich bereits klinisch bewährt hat[1–17]. Da nun, wie Rentz und Kesarbani[18] festgestellt haben, der Meerschweinchendarm (bei fast täglichen Morphingaben) sich im Laufe von etwa zwei Monaten an Morphin gewöhnt, und da andererseits Dolantin als morphinähnliches Mittel gilt und deshalb auch schon unter Rezeptzwang gesetzt worden ist[18a], so schien es von Interesse zu untersuchen, ob dieses Präparat, an der Darmperistaltik geprüft, auch morphinähnliche Eigenschaften besitzt und ob es hier zur Gewöhnung führt oder nicht. Auf Anregung von W. Straub beschäftigten wir uns deshalb damit. Die Frage nach der Dolantinsucht[19–21] sei hier nicht berührt.

Zunächst mußte die zur chronischen Dolantinbehandlung geeignetste subcutane Dosis gefunden werden. In Bestätigung der Versuchsergebnisse von Eisleb und Schaumann[1,2] an Mäusen, Kaninchen und Katzen kann gesagt werden, daß auch Meerschweinchen nach tödlichen Dolantindosen ohne Anzeichen einer narkotischen Wirkung unter Krämpfen an Atemlähmung eingehen, während das Herz noch kurze Zeit weiterschlägt. Die tödliche Dosis liegt bei etwa 70—80 mg/kg subcutan und ist somit etwa 7mal geringer als die entsprechende Dosis für Morphin (500—550 mg pro kg subcutan). 60 mg/kg verursachen eine schwere Vergiftung und bei 40—50 mg/kg treten vorübergehend Krämpfe auf, von denen sich die Tiere aber bald wieder erholen. Die Empfindlichkeit auf Schmerzreize ist 10 bis 15 Minuten nach der Injektion immer herabgesetzt.

---

[1] Eisleb, O., u. O. Schaumann: Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 967. — [2] Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 109 (1940). — [3] Kiessig, H.-J., u. G. Orzechowski: Schmerz usw. **13**, 49 (1940). — [4] Dietrich, Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 969. — [5] Schäfer, F.: Ebenda S. 970. — [6] Rosenthal, H.: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 1079. — [7] Klein, E. K.: Ebenda, S. 1675. — [8] Althoff, H.: Ther. Gegenw. **1939**, S. 258. — [9] Werner, A.: Psychiatr.-neur. Wschr. **1939**, S. 441. — [10] Schlungbaum, H.: Med. Klin. **1939**, S. 1259. — [11] Sostmann, H.: Med. Welt **1940**, S. 325. — [12] Reisinger, F.: Wien. med. Wschr. **1940**, S. 23. — [13] Brunner, H.: Ebenda S. 272. — [14] Benthin, W.: Dtsch. med. Wschr. **1940**, S. 760. — [15] Jessen, H.: Ebenda, S. 1398. — [16] Sprockhoff, O.: Ebenda **1941**, S. 383. — [17] Heydner, W.: Fschr. Ther. **1940**, S. 33. — [18] Rentz, Ed., u. D. N. Kesarbani: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 107 (1941). — [18a] Siehe Münch. med. Wschr. **1940**, S. 956. — [19] Kucher, I.: Klin. Wschr. **1940**, S. 688. — [20] Vogt, K. E.: Med. Klin. **1940**, Nr. 23. — [21] v. Bruecke, S.: Wien. klin. Wschr. **1940**, S. 854.

Auf die Peristaltik des Meerschweinchendünndarms in situ nach Straub[22] wirkt Dolantin nach intravenöser Injektion (die subcutane ergab hier bei den in Betracht kommenden kleinen Dosen keine genügend klare Wirkung), ähnlich wie Morphin: die Darmbewegungen verschwinden in Abhängigkeit von der Dosis für kürzere oder längere Zeit und kehren dann von selbst wieder oder aber sie können, wenn die Dosis nicht zu hoch ist, durch Steigerung des Innendruckes erneut hervorgerufen werden. Hinsichtlich der Wirkung auf die Peristaltik ist aber, im Gegensatz zur zentralen toxischen Wirkung, Dolantin interessanterweise schwächer als Morphin, und zwar wiederum etwa 5—7mal, d. h. um einen der Morphinwirkung ähnlichen Effekt auf den Darm zu erhalten, muß vom Dolantin bedeutend mehr genommen werden als vom Morphin (Abb. 1).

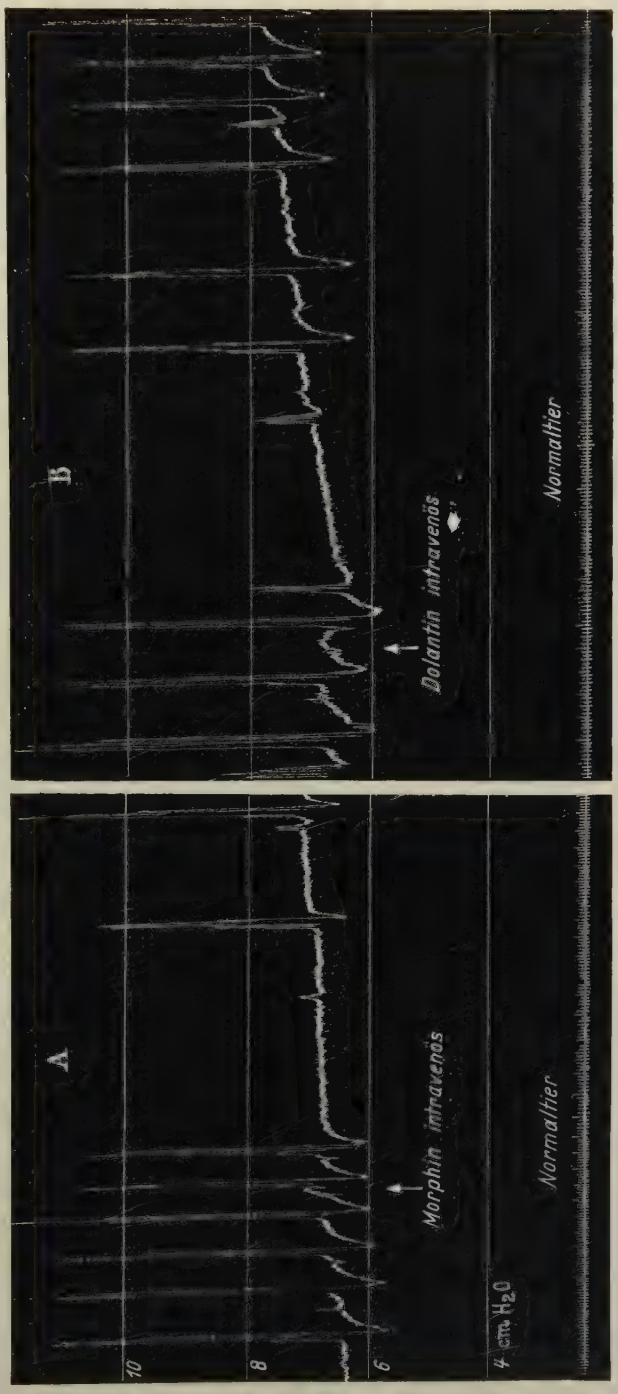


Abb. 1. Meerschweinchendünndarm nach Straub. In A 0,08 mg/kg Morphin intravenös, in B 0,65 mg/kg Dolantin intravenös. Zeitmarkierung alle 10 Sekunden. Füllungsdruck etwa 7 cm Wasser.

[22] Straub, W., u. P. Viaud: Naunyn Schmiedebergs Arch. **169**, 1 (1932).

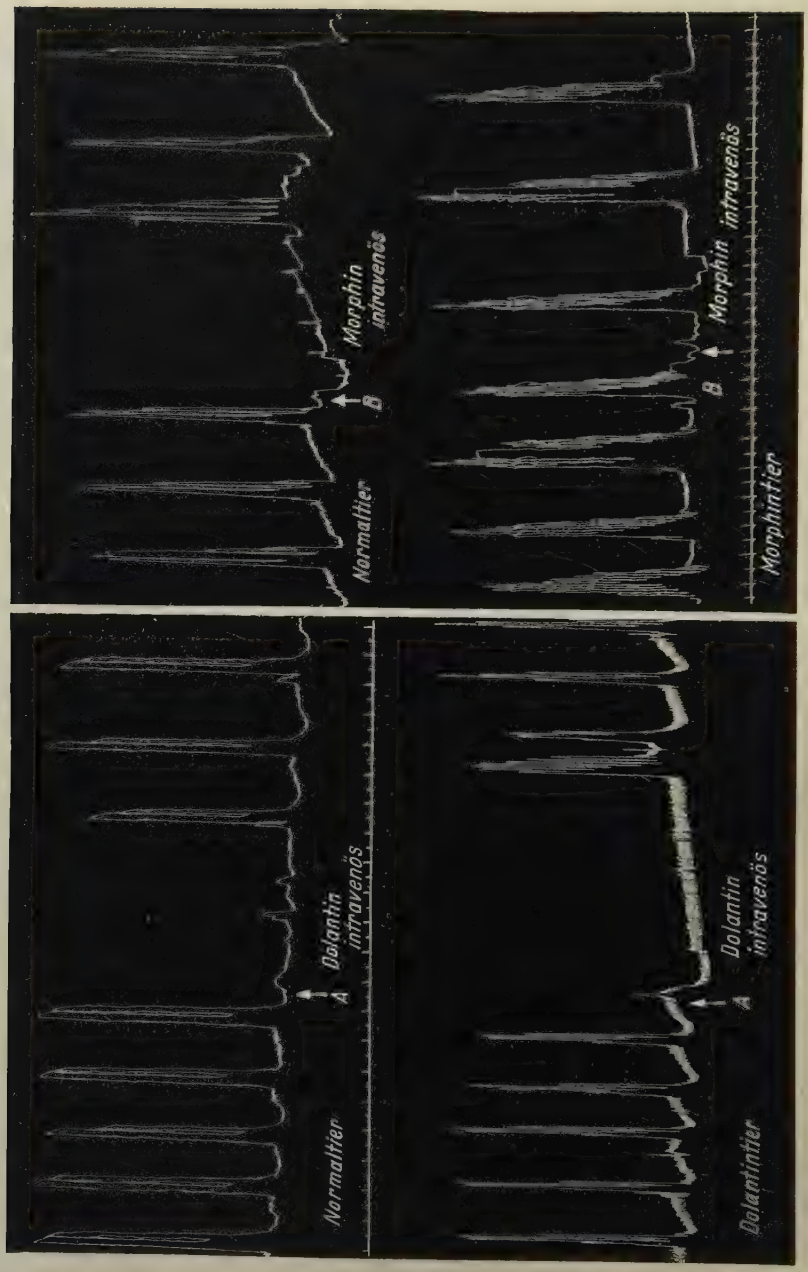


Abb. 2. Meerschweinchendünndarm nach Straub. Oben links Normaltier, unten links Dolantintier (Nr. 8). Bei A Injektion von 0,5 mg kg Dolantin intravenös. Oben rechts Normaltier, unten rechts Morphintier (Nr. 9). Bei B 0,1 mg kg Morphin intravenös. Füllungsdruck überall 7,5 ccm Wasser. Zeitmarkierung alle 30 Sekunden.

Die tödliche Dosis des Dolantins nach intravenöser Injektion liegt, wie Schaumann[2] auch für das Kaninchen gefunden hat, bei etwa 30–50 mg/kg Tier. Als für unsere Versuche geeignetste, mit Morphin (0,1 mg/kg intravenös) vergleichbare Testdosis erwies sich die Menge von 0,5 mg/kg

Tabelle 1.

Nr. der Versuchstiere	Dauer des Versuchs in Tagen	Anzahl der Injektionen	Insgesamt injizierte Dolantin- bzw. Morphinmenge in mg	Anfangsgewichte der Versuchstiere in g	Endgewichte der Versuchstiere	Resultate
			1. Dolantintiere			
1	36	32	495	340	450	Keine Gewöhnung
2	40	36	460	325	375	
3	57	45	522	315	315	
4	59	45	665	320	325	
5	68	51	861	320	345	
6	70	52	990	380	390	
7	74	54	870	320	315	
8	73	53	1094	370	450	
9	72	54	1050	370	440	
10	81	58	952	340	420	
			2. Morphintiere			
1	36	28	506	480	450	Keine Gewöhnung
2	45	36	706	340	350	Unklar
3	60	38	1466	530	550	Gewöhnung
4	64	41	1480	480	520	Unklar
5	68	43	930	420	400	Gewöhnung
6	68	50	1066	360	350	
7	80	46	1705	380	390	
8	70	51	1244	445	400	
9	70	51	1349	450	400	
10	81	60	1312	435	400	

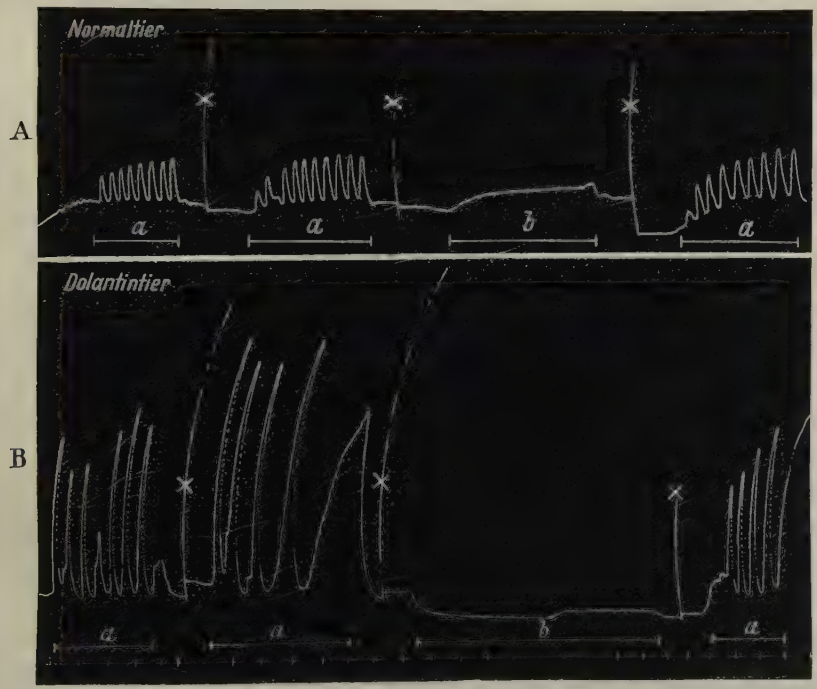


Abb. 3. Meerschweinchendünndarm nach **Trendelenburg**. A Normaltier, B Dolantintier (Nr. 8; dasselbe wie in Abb. 2 links unten). a) Peristaltik bei 3 cm Füllungsdruck; b) das gleiche nach 1 Minute langer Einwirkung von Dolantin (1 : 400000). Dolantin wirkt sowohl in A als in B hemmend. **X = Auswaschen. Zeitmarkierung alle 10 Sekunden.**

Dolantin intravenös. Die geringste auf die Peristaltik wirksame Menge liegt bei 0,05 mg/kg.

Zur chronischen „Dolantinisierung" nahmen wir 10 Meerschweinchen im Gewicht von 315—380 g. Jedes dieser Tiere erhielt täglich (mit Ausnahme der eingeschobenen Ruhetage) die vorübergehend leicht krampfmachende Dosis von 40—50 mg/kg Dolantin in Normosallösung gelöst subcutan. Insgesamt injizierte man so jedem Tier während der ganzen Versuchszeit zwischen 495 und 1094 mg (32—58 Injektionen innerhalb von 36—81 Tagen) Dolantin subcutan und erreichte somit eine Giftmenge, die annähernd derjenigen entspricht, welche die meisten der zum Vergleich benutzten Morphintiere während der ganzen Versuchsdauer in Form von Morphin erhielten.

Die chronische „Morphinisierung" wurde gleichfalls an 10 Meerschweinchen im Gewicht von 350—550 g durchgeführt, denen man in Anlehnung an den Vorgang von Rentz und Kesarbani[18] steigende Mengen von Morphin (25—50—75—100 mg/kg) subcutan injizierte. Näheres ist aus der beigefügten Tabelle zu ersehen.

Am 36. Tage nach Beginn der Vorbehandlung machte man die ersten Versuche mit Morphin und Dolantin. Während bei den Morphintieren zu diesem Zeitpunkt die Morphininjektion auf die Schmerzempfindlichkeit (Kneifen) eine bereits deutlich abgeschwächte Wirkung hatte, traten bei den Dolantintieren nach der Dolantininjektion, wie zu Beginn des Versuches, leichte vorübergehende Krämpfe auf und auch die zentralanalgetische Wirkung hatte sich nicht verändert. Am Darm in situ nach Straub jedoch ließ sich weder am Morphintier nach Morphin, noch am Dolantintier nach Dolantin eine Abschwächung der Wirkung beobachten, auch nicht am 40. bzw. 45. Tage nach Beginn der Versuche.

Als am 57. bzw. 60. Tage der Vorbehandlung die Versuche wieder aufgenommen wurden, stellte es sich heraus, daß die Peristaltik des isolierten Dünndarms in situ in Übereinstimmung mit den Versuchen von Rentz und Kesarbani[18] gegenüber der intravenös injizierten Testdosis des Morphins (0,1 mg/kg), die auf den Dünndarm nicht vorbehandelter Meerschweinchen prompt wirkte, bedeutend abgeschwächt bzw. ganz verschwunden war [nur ein Tier (Nr. 4) verhielt sich refraktär]. Demgegenüber war in den Versuchen mit Dolantin in keinem einzigen Falle eine Abschwächung der Wirkung festzustellen und der Darm reagierte zwischen dem 60.—80. Tage der Gewöhnungsversuche auf die Testdosis von 0,5 mg/kg und ebenso auch auf kleinere Mengen in gleicher Weise wie etwa am 40. Tage bzw. wie am nicht vorbehandelten Tier (Abb. 2).

Versuche mit isolierten Dünndarmstücken, die man in einigen Fällen in der Anordnung nach Trendelenburg[23] prüfte und die man den nach Straub zu prüfenden Tieren entnommen hatte, ließen gleichfalls eine Abschwächung der Dolantinwirkung nicht erkennen (Abb. 3). Interessanter-

[23] Trendelenburg, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **81**, 55 (1917).

weise nahmen auch die Gewichte der Dolantintiere während der Gewöhnungsversuche zu (von durchschnittlich 340 g auf 383 g), indessen die Morphintiere weniger zunahmen oder aber an Gewicht verloren (von durchschnittlich 432 g auf 421 g).

Auch am morphingewöhnten Darm, an welchem die Wirkung des Morphins in der angewandten Dosis abgeschwächt war oder nicht zutage trat, wirkte Dolantin wie gewöhnlich (Abb. 4). Umgekehrt war Morphin am Darm der mit Dolantin chronisch behandelten Meerschweinchen unverändert wirksam.

Alle Versuche lassen eindeutig erkennen, daß Dolantin trotz seiner sonst morphinähnlichen Wirkung sich doch wesentlich vom Morphin unterscheidet, indem es, fast täglich 8—12 Wochen lang in hohen Dosen verabfolgt, nicht zu einer Gewöhnung der peristaltischen Bewegungen, sowohl des in situ belassenen als auch des herausgeschnittenen Dünndarms von Meerschweinchen an kleine Dolantindosen führt, während die Gewöhnbarkeit des Darms an Morphin erneut bestätigt werden konnte. Von einiger Bedeutung hierfür mag vielleicht die Tatsache sein, daß die Wirkung des Dolantins auf den Meerschweinchendarm im Vergleich zum Morphin wesentlich geringer ist als jene auf gewisse Zentren (dosis letalis), denn die minimale töd-

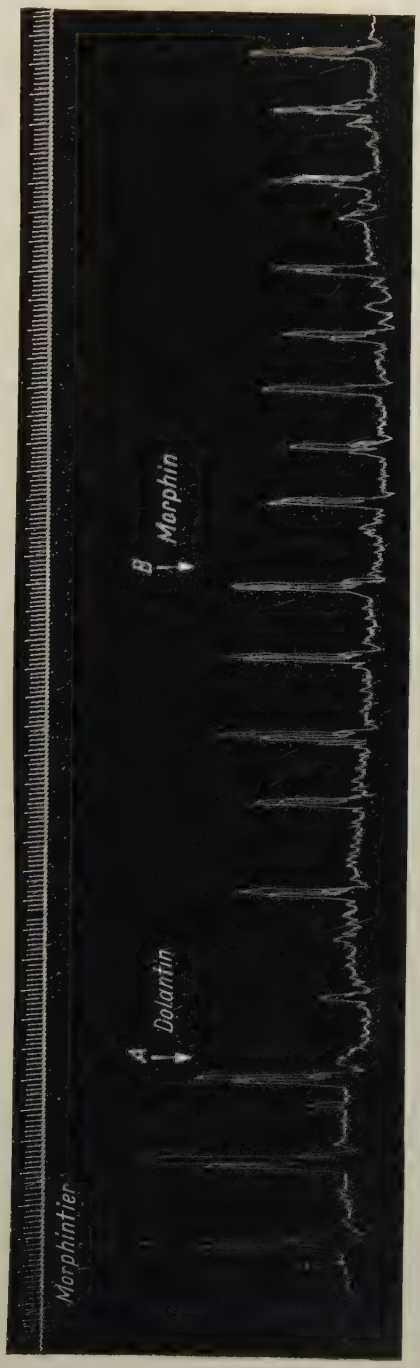


Abb. 4. Meerschweinchendünndarm nach Straub. Morphintier (Nr. 7). Bei A 0,5 mg/kg Dolantin intravenös; bei B 0,1 mg/kg Morphin intravenös. Während Morphin fast unwirksam geworden ist, hemmt Dolantin vorübergehend die Peristaltik. Füllungsdruck = 7 cm Wasser. Zeitmarkierung alle 10 Sekunden.

liche Dosis des Dolantins beträgt etwa 70—80 mg/kg subcutan und ist somit rund 7mal kleiner als die des Morphins, während für die Darmversuche bei intravenöser Injektion vom Dolantin 5—7mal größere Mengen genommen werden mußten als vom Morphin. Demnach wäre, wollte man die von Amsler[24] entwickelte Theorie der Morphingewöhnung auf das Dolantin übertragen, die statische Wirkung des Dolantins am Meerschweinchen im Gegensatz zu jener des Morphins nicht genügend ausgeprägt, um bei wiederholter Einverleibung des Mittels eine chronische Vergiftung zu setzen, die stark genug wäre, seine dynamische Wirkung so zu verändern, wie das beim Morphin der Fall ist.

Zusammenfassung.

In Versuchen am Dünndarm von Meerschweinchen, denen man fast täglich 36—81 Tage lang 40—50 mg/kg Dolantin subcutan verabreicht hatte, ließ sich in keinem Falle eine Gewöhnung der Peristaltik an dieses Mittel feststellen, während in korrespondierenden Versuchen mit Morphin die Gewöhnbarkeit der Meerschweinchen erneut dargetan werden konnte. Die Dolantintiere behielten ihre Dolantin- und Morphinempfindlichkeit im Gegensatz zu den chronisch morphinisierten Tieren, die wohl ihre Empfindlichkeit gegen Morphin, nicht aber gegen Dolantin verlieren. Die beiden chemisch verschiedenen Substanzen sind also auch in der Wirkung wesensverschieden.

[24] Amsler, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 233 (1931).

Berichtigung.

In der Arbeit Kollath und Thierfelder, Bd. **197**, S. 564, muß der letzte Absatz lauten:

3. Wir haben bei mesotrophischen Ratten Immunisierungsversuche gemacht. Vibriolysine konnten nachgewiesen werden, Agglutinine aber nicht. Bei normalen Ratten aber gelang deren Erzeugung.

Die entsprechende Änderung ist unter Punkt 9 der Zusammenfassung nachzutragen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. Fritz Eichholtz.)

Vergleichende pharmakologische Untersuchungen der Adrenalin-Ephedrinkörper*.

Von

Willi Riechert und Hermann Schmieder.

Mit 3 Textabbildungen (8 Einzelbildern).

(Eingegangen am 7. Juni 1941.)

Seitdem Barger und Dale[1] die Wirkung der sympathomimetischen Stoffe aufklärten und seitdem Chen und Schmitt[2] im Jahre 1926 die nahe Verwandtschaft des Ephedrins zum Adrenalin nachwiesen, ist sehr viel über diese Stoffe gearbeitet, und es sind in die Therapie neue Stoffe eingeführt worden, ohne daß es bis heute gelungen wäre, völlige Klarheit über die Beziehungen dieser Substanzen zum Adrenalin zu schaffen. Wenn man außerdem neben den Hauptwirkungen die Nebenwirkungen des Adrenalins betrachtet, die in übersichtlicher Form in einer Tabelle von Eichholtz[3] zusammengestellt wurden, so ist es zu verstehen, warum der Arzt und der Chemiker bemüht sind, neue ähnlich wirkende Stoffe zu finden, bei denen diese unangenehmen Nebenerscheinungen nicht vorhanden bzw. weitgehend herabgemindert sind.

Einer der charakteristischen Unterschiede zwischen dem Adrenalin und dem Ephedrin ist die Stoffwechselwirkung (Blutzuckersteigerung und Acetonausscheidung) des Adrenalins in therapeutischen Dosen, die dem Ephedrin nicht zukommt. Ferner besteht gegenüber dem Kokain und dem Gynergen ein grundsätzlicher Unterschied. Adrenalin wird durch Kokain sensibilisiert. Nach Lähmung durch Gynergen tritt eine umgekehrte Blutdruckwirkung ein, man spricht von der Adrenalinumkehr. Diese beiden Symptome hat das Ephedrin nicht aufzuweisen. Der Wirkungsunterschied ist wahrscheinlich darin begründet, daß beiden Substanzen ein verschiedener Angriffspunkt zukommt, der von vielen Autoren zu klären versucht wurde.

Die bisherige Einteilung dieser Körperklasse wurde demnach nach dem Gesichtspunkte getroffen, daß das Adrenalin als echter Reizstoff für den Sympathicus anzusehen ist, während das Ephedrin nur einige Symptome der Adrenalinwirkung aufweist und als pseudo-sympathicotrop in seiner Wirkung angesehen wird. Die weiteren Substanzen dieser Körperklasse

* D 16.

[1] Barger, G., u. H. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910). — [2] Chen, K. K., u. C. F. Schmitt, J. Pharmacol. (Am.) **24**, 339 (1925). — [3] Eichholtz, F.: Angew. Chemie **53**, 517 (1940).

reihte man auf Grund ihrer Wirkungsähnlichkeit mit dem Adrenalin oder dem Ephedrin zwischen beiden ein und sprach von adrenalinähnlich oder ephedrinähnlich wirkenden Stoffen.

Hinzu kommt noch die schon beim Ephedrin bekannte Weckwirkung, die durch die Einführung des Benzedrins (Prinzmetal und Bloomberg)[4] und des Pervitins (Hauschild)[5] eine besondere Bedeutung erreichte. Man kann somit eine Unterabteilung „Weckamine" treffen, zu der einige der ephedrinähnlichen Stoffe gehören.

Es bestehen immer noch einige Unklarheiten in bezug auf diese Wirkungsunterschiede mit besonderem Hinblick auf Blutreservoire, Bildung von Lungenödem usw., so daß es uns lohnend erschien, die bisher in die Therapie eingeführten Körper der Adrenalin-Ephedrinreihe in ihrer Wirkung miteinander zu vergleichen, um daraus weitere Schlüsse auf den Wirkungsmechanismus der einzelnen Vertreter der sympathomimetisch bzw. pseudosympathomimetisch wirkenden Körperklasse zu ziehen. Hier interessierte uns besonders der Vergleich der Blutdruckkurven mit der Milzkontraktion, die uns ein Maß für die Blutspeicherfähigkeit angibt. Das Auftreten eines Lungenödems nach Gabe von Kreislaufmitteln ist der einfachste Test für eine akute toxische Kreislaufstörung, wie sie bei entsprechender Konzentration nach Adrenalin auftritt. Es ist deshalb berechtigt, die anderen Substanzen neben dem Adrenalin in dieser Hinsicht zu untersuchen, um festzustellen, ob durch diese eine akute Kreislaufstörung überhaupt hervorgerufen werden kann, und wenn ja, bei welcher Dosierung diese Störung im Experiment beobachtet werden kann.

Weiterhin untersuchten wir die Stoffwechselwirkung dieser Körperklasse am Kaninchen, um festzustellen, ob neben dem Adrenalin noch anderen Substanzen eine blutzuckersteigernde Wirkung zukommt.

Außerdem wurde in Untersuchungen an Ratten die zentral erregende Wirkung der einzelnen Stoffe mit der des Pervitins verglichen in Hinsicht darauf, bei welcher Substanz nach der chemischen Einteilung diese zuerst beobachtet werden kann und bei welcher Dosierung sie deutlich wird.

In Tabelle 1 sind die Konzentrationen der Handelspackungen angegeben; Ausgangskonzentration in unseren Versuchen ist jeweils 1 ccm der Handelspackung; diese wurde, wie in den einzelnen Versuchen angegeben entsprechend verdünnt.

Tabelle 1.

	g in 1 ccm		g in 1 ccm
Adrenalin	0,001	Veritol	0,02
Corbasil	0,006	Ephedrin	0,05
Sympatol	0,06	Benzedrin	0,005
Base B des Ikorals	0,01	Elastonon	—
Suprifen	0,01	Pervitin	0,015

[4] Prinzmetal u. Bloomberg: J. amer. med. Assoc. **105**, Nr. 25 (1935). — [5] Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1939).

Blutdruckversuche.

Wohl bei keiner Wirkung als bei der Kreislaufwirkung des Adrenalins war die Forderung so dringend, neue ähnlich wirkende Substanzen zu finden, die nicht mit so unangenehmen Nebenwirkungen einhergehen. Wohl hat das Adrenalin den anderen Vertretern der Adrenalin-Ephedrinreihe das eine voraus, daß minimale Dosen eine deutliche Wirkung auf den Kreislauf zeigen, jedoch schon bei dieser Konzentration können unangenehme Nebenwirkungen auftreten. Die kurze Wirkungsdauer des Adrenalins bei einer Kreislaufinsuffizienz erfordert, Substanzen von längerer Wirkungsdauer anzuwenden, um wiederholte Adrenalingaben zu vermeiden und die Gefahr der Adrenalinintoxikation zu beseitigen. Wie die Untersuchungen der einzelnen Autoren zeigen, besteht teilweise ein grundsätzlicher Unterschied in der Kreislaufwirkung der einzelnen Vertreter der Adrenalin-Ephedrinreihe.

Methode.

Diese Versuchsserie wurde mit der Trendelenburgschen[6] Gegenstrominfusion durchgeführt und der Blutdruck blutig mit einem Hg-Manometer gemessen. Nach Einbinden der Venenkanüle in eine Vena jugularis und Verbindung der Carotis vermittels einer eingebundenen Glaskanüle mit einem Hg-Manometer, wurde dicht unter dem linken Rippenbogen ein Längsschnitt durch die Bauchdecke geführt, die Wundränder mit dem Thermokauter koaguliert, die Milz vorsichtig, ohne sie zu verletzen, vorgelagert und nach dem Schema der Abb. 1 so fixiert, daß ihre Volumenschwankungen registriert werden konnten. Eine Erhebung der Milzkurve ist einer Kontraktion gleichzusetzen. Die Bauchhöhle wurde mit Locke-Lösung bis zum Einsatzrohr des Metallringes gefüllt.

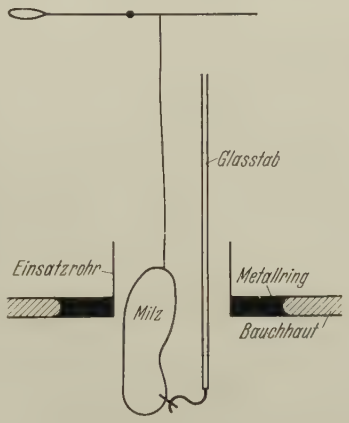


Abb. 1.

Die jeweilige intravenöse Injektion erfolgte in der Zeit von 10 Sekunden. Anschließend erfolgte eine Nachspülung mit 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Die Dekapitation der Versuchstiere wurde nach den Angaben von Sherrington[7] durchgeführt.

Die Blutdruckwirkung des Adrenalins, die vorwiegend auf einer Kontraktion der Arteriolen im Splanchnicusgebiet beruht, tritt bei der intravenösen Injektion ganz plötzlich ein und ist von kurzer Dauer. Beim de-

[6] Trendelenburg, P.: Pflügers Arch. **203**, 413 (1924). — [7] Sherington, C. S.: J. Physiol. (Brit.) **38**, 375 (1909).

kapitierten Tier sind die Versuchsergebnisse die gleichen. Mit dem Blutdruckanstieg geht die Milzkontraktion konform.

Das Corbasil ist die einzige Substanz dieser Reihe, die dem Adrenalin in bezug auf Blutdruckwirkung und Wirkung auf die Milz nahekommt. Nach den Arbeiten von Schaumann[8] scheint der Wirkungsmechanismus des Corbasils dem des Adrenalins völlig zu entsprechen. Am ergotamisierten Tier findet eine Umkehr der Blutdrucksteigerung statt, nach Kokainisierung erhöht sich der Blutdruck auf etwa das Doppelte.

Nach den grundlegenden Untersuchungen von Kuschinski[9] erhöht das Sympatol den Blutdruck nach intravenöser Injektion bei einer Dosierung, die bei gleicher Wirkung etwa 60—100mal höher sein muß als die des Adrenalins. Am Normaltier (siehe Abb. 2) erreicht man mit Sympatol 1 : 10 die gleiche Milzkontraktionshöhe wie bei Adrenalin 1 : 160, während jedoch die Kontraktionsdauer länger anhält. Am dekapitierten Tier bestehen ähnliche Unterschiede. Hier entspricht Sympatol 1 : 10, bezogen auf Höhe des Blutdruckanstieges und Milzkontraktion, ungefähr den Werten wie beim Adrenalin 1 : 160; die Dauer beider Kurven ist beim Sympatol viermal länger (s. Abb. 2).

Tabelle 2.

Substanz	Nicht dekapitierte Katze						Dekapitierte Katze				
			Blutdruck		Milz		Blutdruck		Milz		
	Konzentration	Ausgangsblutdruck	Steigerung	Dauer	Kontraktion	Dauer	Steigerung	Dauer	Kontraktion	Dauer	Konzentration
			Hg mm	Min.	mm	Min.	Hg mm	Min.	mm	Min.	
Adrenalin .	1 : 160	100	40	4	16	12	40	6	19	15	1 : 160
Corbasil ..	1 : 160	100	60	5	16	12	50	6	20	15	1 : 160
Adrenalin .	1 : 160	110	20	3	25	20	40	6	28	20	1 : 160
Sympatol .	1 : 10	110	50	12	27	32	40	25	28	25	1 : 20
Adrenalin .	1 : 160	80	60	4	23	15	50	4	22	10	1 : 160
Ikoral	1 : 40	80	90	13	28	30	80	16	22	30	1 : 20
Adrenalin .	1 : 160	140	40	5	25	8	30	4	28	10	1 : 160
Suprifen ..	1 : 20	140	16	12	15	90	10	15	13	52	1 : 20
Adrenalin .	1 : 160	90	*S*	2	18	8	30	3	10	15	1 : 160
Veritol ...	1 : 40	90	60	12	18	36	60	63	12	72	1 : 10
Adrenalin .	1 : 160	100	40	4	22	15					
Ephedrin .	1 : 40	100	70	60	12	70					
Adrenalin .	1 : 160	110	60	3	30	15	50	23	20	18	1 : 160
Benzedrin.	1 : 40	110	60	30	10	30	10	20	8	20	1 : 40
Adrenalin .	1 : 160	70	70	5	35	10	50	5	27	15	1 : 160
Pervitin ..	1 : 40	70	80	30	15	60	40	70	5	70	1 : 40

S = Senkung.

[8] Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 127 (1931). — [9] Kuschinski: Ebenda **156**, 290 (1930).

Nach vorheriger Gynergenisierung und Kokainisierung verhielt sich das Sympatol teilweise abweichend vom Adrenalin. Ergotamintartrat schwächt die Sympatolwirkung nur gering ab, Kokain sensibilisiert das Versuchstier für Adrenalin wie auch für Sympatol.

Gegenüber dem Adrenalin 1 : 160 steigt beim Ikoral 1 : 40 der Blutdruck auf das Doppelte an, während die Kontraktionshöhe der Milz nicht ganz diejenige der durch Adrenalin hervorgerufenen erreicht. Am dekapitierten Tier ist der gleiche starke Blutdruckeffekt zu beobachten.

Das Suprifen ist auf Grund seiner chemischen Konstitution als paraoxy-ephedrin aufzufassen. Nach den Untersuchungen von Schaumann[10], Sturm[11] und Rühl[12] kommt dem Suprifen ein vorwiegend ephedrinähnlicher Wirkungscharakter zu. Schaumann glaubte, auf Grund seiner Versuchsergebnisse schon eine angedeutete Ähnlichkeit mit dem Adrenalin festzustellen, was wir jedoch in unseren Untersuchungen nie beobachten konnten. Suprifen 1 : 20 ruft nur eine geringe Blutdrucksteigerung hervor, während die Höhe der Milzkontraktion nicht ganz den Wert von der bei Adrenalin 1 : 160 ergibt. Diese hält sehr lange an und erinnert deshalb stark an die Ephedrinwirkung.

Das Veritol hat in der Konzentration 1 : 40 einen längeren Einfluß auf die Milzkontraktion als das Adrenalin, während die Kontraktionshöhe beider Kurven gleich ist. Der Blutdruckanstieg übertrifft bei weitem den von Adrenalin an Höhe und Dauer. Wird die Dosis des Veritols auf 1 : 10 erhöht, so bleibt die Kontraktion der Milz annähernd $1^1/_2$ Stunden auf dem Kontraktionsniveau, um dann verhältnismäßig schnell wieder abzufallen. Entsprechend ist auch die Blutdruckwirkung anhaltender, jedoch nicht so lange andauernd wie die Milzkontraktion (s. Abb. 2).

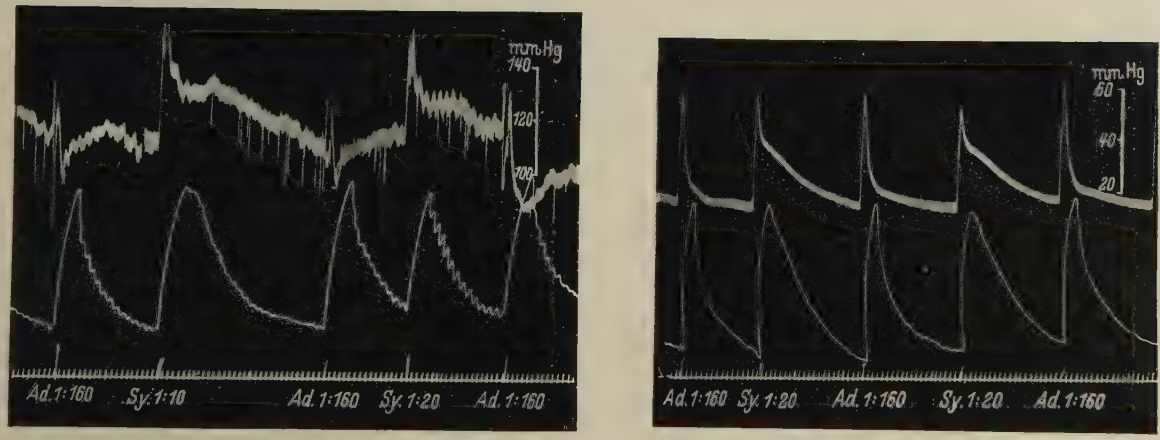
Aus diesem Vergleich der Adrenalin- und Veritolmilzkurven ist zu ersehen, daß wohl Adrenalin intensiver auf die Milz wirkt, d. h. schon wesentlich geringere Dosen rufen eine vollkommene Kontraktion hervor, daß aber durch Veritol die Kontraktion eine wesentlich längere Zeit anhält, so daß die Milz nicht die Möglichkeit hat, sich in dieser Zeit mit Blut aufzufüllen.

Nach Gynergen und Kokain besteht ein deutlicher Unterschied gegenüber dem Adrenalin. Kokain schwächt die Veritolwirkung ab, nach Ergotamin besteht nur anfänglich eine Umkehrung der Wirkung. Da die Ephedrinwirkung im analogen Versuch nach Kokain abgeschwächt, nach Ergotamin unbeeinflußt ist, so stellt Biehler[13] das Veritol zwischen das Adrenalin und Ephedrin.

---

[10] Schaumann, O.: a. a. O. — [11] Sturm, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 363 (1936). — [12] Rühl, A.: Ebenda **164**, 8 (1932). — [13] Biehler, W.: Z. exper. Med. **101**, 62 (1937).

Sympatol (normale Katze). Abb. 2. Sympatol (dekapitierte Katze).



Sy. = Sympatol. Ad. = Adrenalin. Zeit: 1 Minute.

Veritol (normale Katze). Veritol (dekapitierte Katze).

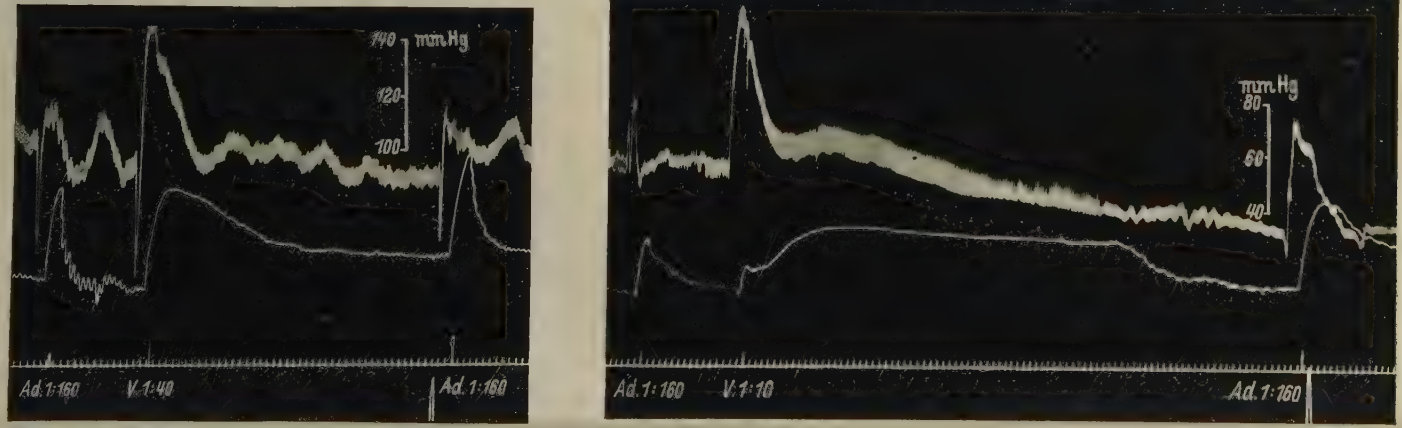
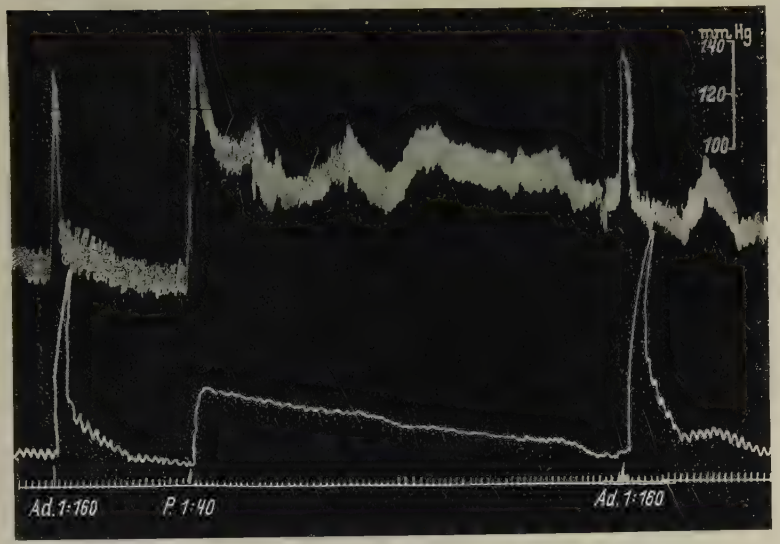
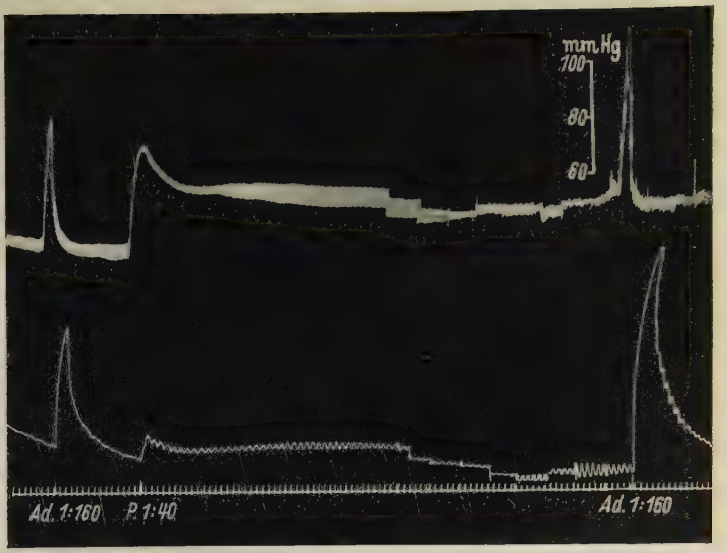


Abb. 2 (Fortsetzung).

Pervitin (normales Tier — Katze).



Pervitin (dekapitiertes Tier).



Ad. = Adrenalin. P. = Pervitin. Zeit: 1 Minute.

Rein[14] hat sich nun eingehend mit der Analyse der Veritolwirkung befaßt. Übereinstimmend mit den Versuchsergebnissen von Biehler stellte er fest, daß die absolute Höhe der Blutdrucksteigerung von vorhergehender Blutdruckhöhe des Versuchstieres abhängig ist, und daß der ganze Mechanismus der Blutdrucksteigerung grundsätzlich anderer Natur sein muß als der des Adrenalins.

Uns interessierten nun von den Versuchen Reins besonders diejenigen, in denen er versuchte, durch Veritol die Milz zu beeinflussen. Er beobachtete eine verhältnismäßig langsame Schrumpfung der Milz, die an Ausmaß und Dauer erheblich die durch Adrenalin hervorgerufene bei gleicher Blutdruckwirkung übertraf. Diese Tatsache spräche für eine gründliche und langandauernde Entspeicherung der Milz. Diese war angeblich nach einer Stunde noch maximal geschrumpft. Gegenüber dem Adrenalin, das nach $1-1^1/_2$ Minuten die Milz entspeichert und dadurch einen kräftigen Anstieg des Milzvenenstromes verursacht, verläuft dieser Prozeß beim Veritol wesentlich langsamer und andauernder, dabei soll die Milz eine Entspeicherung erfahren, wie sie durch Adrenalin kaum erreicht wird. In unseren Untersuchungen, bei denen die Milzkontraktion direkt gemessen wurde, zeigen sich im Vergleich zum Adrenalin in bezug auf die Dauer der Entspeicherung der Milz ähnliche Verhältnisse wie in den Versuchen von Rein. Jedoch konnten wir immer wieder feststellen, daß das Adrenalin wesentlich stärker als das Veritol auf die Milz einwirkt, was allein schon durch die geringen Dosen des Adrenalins gegenüber denen des Veritols zum Ausdruck kommt. Man muß hier streng unterscheiden zwischen der eigentlichen Kontraktionsstärke der Milz und deren Dauer. Adrenalin wirkt gegenüber den anderen untersuchten Substanzen schon in ganz geringen Dosen in einem starken Maße auf die Milz, diese Kontraktion ist aber nach Erreichung des Maximums sofort wieder vorüber, d. h. die Kontraktionskurve fällt stark ab, während das Veritol nicht so intensiv auf die Milz wirkt, dafür diese aber über eine wesentlich längere Zeit in diesem Kontraktionszustand erhält. Damit hat die Milz, und aller Wahrscheinlichkeit nach auch die anderen Blutdepotorgane, nicht die Möglichkeit, sich in der ganzen Wirkungszeit erneut mit Blut aufzufüllen; dadurch verbleibt die ausgepreßte Blutmenge für längere Zeit im Kreislauf. Hierin scheint unseres Erachtens der wesentliche Unterschied zwischen der Adrenalinwirkung und der Wirkung derjenigen Substanzen zu liegen, die die Milz über längere Zeit in einem Kontraktionszustand verweilen lassen.

Die Blutdruckwirkung des Ephedrins wurde eingehend von Kreitmair[15] analysiert. Beim Kaninchen beträgt die kleinste Dosis 0,05 mg pro kg Tier bei intravenöser Injektion gegenüber dem Suprarenin von 0,0005 mg/kg Tier. Es besteht also ein Wirkungsunterschied von 1 : 100

[14] Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — [15] Kreitmair, H.: Ebenda **120**, 189 (1927).

bei gleichem Wirkungseffekt gegenüber dem Adrenalin. Die Ephedrinwirkung ist beträchtlich länger anhaltend. Nach Kreitmair wird das Maximum bei 1—5 mg/kg Tier erreicht. Bei wiederholten Injektionen tritt schließlich die Erscheinung der Tachyphylaxie ein. Im Gegensatz zum Adrenalin ist eine Umkehr nach Gynergenisierung nicht festzustellen. Am dekapitierten Tier ist die Blutdruckwirkung voll erhalten. Unsere Versuche bestätigen die Untersuchungsergebnisse von Kreitmair und vergleichen gleichzeitig den Verlauf der Milzkontraktionskurve mit dem der Blutdruckkurve. Die Konzentration 1 : 40 Ephedrin hat eine deutlich stärkere Wirkung gegenüber dem Adrenalin 1 : 160 zur Folge. Der Abfall zieht sich über eine längere Zeit hin (s. Abb. 2). Die Milzkontraktion ist bei dieser Konzentration nur halb so stark wie bei der des Adrenalins und hat auch dann erst das Ausgangsniveau erreicht, wenn die Blutdrucksteigerung sich völlig ausgeglichen hat.

Beim Pervitin besteht ein deutlicher Unterschied in bezug auf die Milzkontraktion am dekapitierten Tier gegenüber der am nicht dekapitierten Tier (s. Abb. 2). Wie aus der Abb. 2 hervorgeht, kann bei der Pervitinkonzentration 1 : 40 der gleiche Blutdruckanstieg wie mit Adrenalin 1 : 160 erzielt werden, aber mit dem Unterschiede, daß der Blutdruck nach Pervitin lange Zeit auf einem erhöhten Niveau stehenbleibt und ganz allmählich zur Norm abfällt. Ganz ähnlich ist es mit der Kontraktion der Milz. Am dekapitierten Tier sind Blutdruckanstieg und Höhe der Milzkontraktion bei gleicher Dosierung wesentlich schwächer ausgebildet.

Die Wirkung des Benzedrins (Handelsname Elastonon) unterscheidet sich in bezug auf Blutdruck und Milzwirkung nicht wesentlich von der Wirkung des Pervitins.

Beobachtungen über die Entstehung von Lungenödem.

Luisada[16] gelang es zum ersten Male, Lungenödem nach höheren Konzentrationen von Adrenalin am Kaninchen zu erzeugen. Die Dosen lagen in dem Bereich von 0,15—0,35 mg/kg Tier. Viele andere Autoren konnten diese Beobachtung bestätigen. Eichholtz und Hoppe[17] stellten Versuche an mit Adrenalin und Kokain, Tutokain und Pantokain, um festzustellen, ob die Dosis letalis dieser Lokalanaesthetica durch den Zusatz von Adrenalin herabgesetzt wird; dabei konnten sie beobachten, daß bei einigen Tieren nach überstandenem Krampf eine schaumig seröse Flüssigkeit aus den Nasenlöchern tropfte, die offensichtlich aus den Lungen stammte. Wie die Sektion bestätigte, handelte es sich in diesen Fällen um ein hochgradiges Lungenödem.

Während die Dosis letalis von Kokain 24 mg/kg Tier betrug, setzte der Zusatz von Adrenalin von 1 : 40000 diese auf 7 mg herab. War ein

[16] Luisada: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **132**, 296 (1928). — [17] Eichholtz, F., u. G. Hoppe: Ebenda **173**, 687 (1933).

Lungenödem vorhanden, so stieg das Lungengewicht/100 g Tier wesentlich über den Durchschnittswert 1,13 g an. Es ist also verständlich, analoge Versuche mit den erwähnten Vertretern der Adrenalin-Ephedrinreihe durchzuführen, um festzustellen, welche von ihnen in der gleichen Versuchsanordnung ein Lungenödem erzeugen. Andererseits interessierte die Fragestellung, ob ein Unterschied besteht zwischen den Lungenödem-erzeugenden Dosen mit Kokain und der Dosis letalis.

Methode.

Die Konzentration der Kokainlösung betrug 1%. Als Verdünnungsflüssigkeit diente je nach Bedarf eine Adrenalinlösung 1 : 40000, 1 : 80000 usw. An Stelle des Adrenalins wurden dann die anderen obenerwähnten Substanzen in die Untersuchung mit einbezogen.

Die jeweils injizierten Mengen von Adrenalin, Corbasil, Sympatol usw., ferner die Kokainmenge können aus Tabelle 3 ersehen werden. Die Injektion erfolgte in eine seitliche Schwanzvene, die sich mit einiger Übung leicht auffinden läßt.

Als Dosis letalis wurde diejenige verstanden, bei der von 3 Versuchstieren 2 Tiere eingingen. Zur Feststellung des Lungenödems wurden die Thoraxorgane vorsichtig herausgenommen, das Herz von den Lungen abpräpariert, das Lungenvolumen und das Lungengewicht bestimmt und daraus das spezifische Gewicht und das Lungengewicht auf 100 g Tier errechnet.

Bei den Versuchstieren (Ratten), bei denen ein Lungenödem ohne Kokain durch die Dosis letalis erzeugt werden sollte, wurden die einzelnen Stoffe intravenös, doch hauptsächlich intraperitoneal gespritzt.

Kokain allein intravenös injiziert erzeugt auch nach lang andauernden Krämpfen kein Lungenödem. Die Dosis letalis betrug bei 21 Kontrolltieren 15 mg/kg Tier, das durchschnittliche Lungengewicht 1,1 g/100 g Tier.

Nach Zusatz von Adrenalin 1 : 40000 betrug die Dosis letalis 4 mg, bei Adrenalin 1 : 80000 5–6 mg, 1 : 160000 12 mg. Bei diesen drei Versuchsserien war, wie schon makroskopisch erkennbar, ein Lungenödem vorhanden, was aus dem erhöhten Lungengewicht/100 g Tier hervorging. Diese Beobachtungen decken sich mit denen von F. Eichholtz und G. Hoppe.

Außer dem Adrenalin rufen noch Corbasil und in geringem Maße in dieser Versuchsanordnung Sympatol ein Lungenödem hervor. Je mehr man von diesen 3 Stoffen zusetzt, um so stärker ist das Lungenödem ausgebildet. Corbasil und Sympatol setzen die Dosis letalis des Kokains nicht wesentlich gegenüber dem Adrenalin herab. Die anderen in der Tabelle angeführten Substanzen sind ohne Einfluß auf die Bildung von Lungenödem.

Tabelle 3. Lungenödemversuche mit Kokain.

Substanz	Konzentration der zugesetzten Stoffe g	Konzentration mg/kg Tier	Kokainkonzentration mg/kg Tier	Zahl der Tiere	Lungenödem	Durchschnitts-Lungengewicht g	Lungendurchschnittsgewicht pro 100 g Tier g
Adrenalin	0,001 : 40	0,025	3 — 4	5	5	4,2	2,0
	0,001 : 80	0,0125	5 — 6	6	6	3,1	1,7
	0,001 : 160	0,0062	12	4	2	2,9	1,2
Corbasil	0,06 : 40	0,155	10	3	3	3,0	2,1
	0,06 : 80	0,075	10	2	2	2,05	1,9
	0,06 : 160	0,0325	12	4	3	2,3	1,7
	0,06 : 320	0,0162	15	5	4	2,2	1,9
	0,06 : 640	0,0081	15	3	—	1,8	1,4
Sympatol	0,06 : 40	1,5	15	5	3	2,9	1,5
	0,06 : 80	0,75	20	6	—	1,8	1,2
Ikoral Base B	0,01 : 40	0,25	12	5	—	1,4	1,3
Suprifen	0,01 : 40	0,25	18	4	—	1,75	1,2
Veritol	0,02 : 40	0,5	18	4	—	2,4	1,4
Ephedrin	0,05 : 40	1,25	15	3	—	1,2	1,1
Benzedrin (Elastonon)	0,05 : 40	0,125	18	3	—	1,2	0,9
Pervitin	0,015 : 40	0,375	18	4	—	3,0	1,3
Kokain	Nach 3 Min. Krämpfe getötet mit 1 ccm einer 5%igen KCN-Lösung		15	21	—	2,2	1,1

In der zweiten Versuchsserie (s. Tabelle 4) gesellt sich zum Adrenalin, Corbasil und Sympatol noch das Ikoral (Base B).

Tabelle 4. Lungenödemversuche mit letalen Dosen.

Substanz	Zahl der Tiere	Lungenödem	Dosis mg/kg Tier	Injizierte Menge mg	Lungengewicht g	Lungenvolumen ccm	Spez. Gewicht	Gewicht pro 100 g Tier g
Adrenalin	2	2	2	0,56	6,15	6,5	1,0	2,15
Corbasil	2	2	12	2,28	4,4	6,75	0,75	2,3
Sympatol	2	2	1500	315	3,15	3,25	1,0	1,5
Ikoral Base B	2	2	10	1,45	3,7	4,0	1,0	2,6
Suprifen	2	—	800	16	1,65	2,0	0,8	1,15
Veritol	2	—	400	80,0	1,85	2,75	0,7	1,0
Ephedrin	2	—	600	50,0	1,9	2,75	0,7	1,0
Benzedrin (Elastonon)	2	—	30	4,8	1,7	2,75	0,62	1,1
Pervitin	2	—	45	6,3	2,2	3,25	0,7	1,2

Über die Entstehung des Lungenödems durch Adrenalin herrschen noch nicht einheitliche Anschauungen. Cloetta und Anders[18] konnten im Gegensatz zu Weber[19] keine Verengung der Lungengefäße nach

[18] Cloetta u. Anders: Siehe Heffters Handbuch II, 2, 1910. — [19] Weber, F.: Arch. Physiol. **1910**, Suppl. 377, 1912.

Adrenalin feststellen; im Gegenteil: die Lungen nehmen nach Ansicht dieser Autoren durch vermehrte Blutfülle an Volumen zu, beruhend auf der Giftwirkung des Adrenalins auf das Herz. Nach den Untersuchungen von W. R. Hess[20] und Daly de Burgh[21] kann mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß ein Sympathicusreiz eine Dilatation der Lungengefäße zur Folge hat. Damit wäre eine Vergrößerung des Lungenvolumens durch Überfüllung der erschlafften Lungengefäße durch entsprechende Adrenalindosen erklärt. Eichholtz glaubt nun, daß bei der Blutüberfüllung der Lungen die Abdichtung der Gefäßwände nicht mehr genügend erfolgt, was auf die toxische Wirkung des Adrenalins auf die Kapillaren der Lungenalveolen zurückzuführen ist, „als den akuten Ausdruck jener bekannten degenerativen Vorgänge am Gefäßapparat, die nach chronischer Anwendung des Adrenalins bekannt sind".

Auf Grund der vorliegenden Versuche kann eine toxische Wirkung auf das Herz ausgeschlossen werden, da die gegebenen Adrenalindosen gering sind. Die Durchlässigkeit der Lungenkapillaren scheint örtlich bedingt zu sein. Kokain verstärkt die Adrenalinwirkung, denn in den Versuchen ohne Kokain muß eine wesentlich höhere Dosis von Adrenalin gegeben werden, um ein Lungenödem zu erzeugen.

In neuerer Zeit haben Jarisch[22] und Mitarbeiter eine Erklärungsmöglichkeit des zentral bedingten Lungenödems durch Veratrin und Cardiazol gegeben. Das Wesentliche, was uns aus diesen Arbeiten interessiert, ist die Tatsache, daß durch Veratrin und durch Cardiazol ein zentraler Sympathicusreiz entsteht mit starker pressorischer Kreislaufwirkung und Entleerung der Blutdepots. Daraus ergibt sich eine Überfüllung des kleinen Kreislaufs, die Lungenkapillaren erschlaffen, Anschoppung und Druckanstieg sind die Folgen; damit ist die Vorbedingung für die Transsudation gegeben. Der von obigen Autoren definierte örtliche Vasomotorenfaktor setzt sich wohl aus der Erweiterung der Lungenkapillaren nach Adrenalin zusammen, und ferner aus der toxischen Wirkung des Adrenalins auf die Lungengefäße, so daß dadurch die Abdichtung der Gefäße nicht mehr gewährleistet ist.

Wirkung der Adrenalin-Ephedrinkörper auf den Stoffwechsel.
(Blutzuckererhöhung und Acetonausscheidung.)

Methode.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Vor jedem Versuch hungerten die Tiere 18 Stunden. Dann wurden nach der Bestimmung des Nüchternblutzuckers 0,2 ccm der Handelspackung der jeweils zu untersuchenden

[20] Hess, W. R.: Die Regulation des Blutkreislaufes u. d. Atmung, Leipzig 1 31, — [21] Daly de Burgh: Physiol. Rev. (Am.) **13**, 149 (1933). — [22] Jarisch, A., u. H. Thoma: Klin. Wschr. **1940**, S. 76.

Substanz subcutan gespritzt. Anschließend erfolgte in Abständen von 30 Minuten die Blutentnahme zur Blutzuckeruntersuchung.

Die Bestimmung des Blutzuckers erfolgte nach der Methode von Hagedorn-Jensen. Es sei noch erwähnt, daß unter Blutzuckerwirkung eine mit therapeutischen Dosen zu erzielende Erhöhung des Blutzuckerspiegels verstanden wird. In der Zeit zwischen den einzelnen Versuchen bekamen die Tiere eine gemischte Kost, bestehend aus Körnern, Kartoffeln, Rüben und Kohlblättern.

Die hyperglykämische Wirkung des Adrenalins wurde zum ersten Male von Zuelzer[23] und Metzger[24] beobachtet. Andere Autoren, wie Stenström[25] und Laurin[26] konnten die gleiche Beobachtung machen, und zwar war das Maximum des Anstieges nach 2 Stunden vorhanden, um dann langsam bis zum Anfangswert herabzusinken. Neben dem Adrenalin konnte durch therapeutische Dosen nur mit dem Corbasil eine deutliche Blutzuckersteigerung erzielt werden mit dem Unterschied, daß das Maximum erst nach $2^1/_2$ Stunden gegenüber dem Adrenalin, das schon nach $1^1/_2$ Stunden erreicht wird, erfolgt.

Über die blutzuckersteigernde Wirkung des Sympatols sind die Angaben der einzelnen Autoren nicht einheitlich. Lasch[27] beobachtete nach verhältnismäßig geringen Dosen eine deutliche Hyperglykämie am Kaninchen, was Ehrismann[28] nicht bestätigen konnte. Auch in unseren Versuchen zeigte sich kein Effekt nach 0,2 ccm Sympatol pro kg Tier. In Tabelle 5 sind alle Versuchsergebnisse angegeben. Sympatol, Base B des Ikorals, Veritol, Suprifen, Ephedrin, Pervitin, Benzedrin zeigten keinen Einfluß in therapeutischen Dosen auf den Blutzuckerspiegel.

Tabelle 5.

Substanz	Anzahl der Tiere	Nüchtern-blutzucker	Stunden						Konzentration
			$^1/_2$	1	$1^1/_2$	2	$2^1/_2$	3	
		m%	mg% Blutzucker						
Adrenalin ..	6	105	257	318	330	314	300	282	0,2 ccm der Handelspackung pro kg Tier subcutan
Corbasil	6	107	228	320	350	356	359	345	
Sympatol ..	6	115	127	129	126	115	112	108	
Ikoral Base B ...	6	108	110	109	110	108	104	100	
Suprifen ...	4	113	114	110	111	103	103	106	
Veritol	6	110	121	127	115	110	104	106	
Ephedrin ...	6	108	115	115	102	108	107	108	
Benzedrin ..	4	108	112	108	102	103	105	108	
Pervitin	6	119	122	121	117	121	115	112	

[23] Zuelzer, G.: Berl. klin. Wschr. **38**, 1209 (1901). — [24] Metzger, L.: Münch. med. Wschr. **49**, 478 (1902). — [25] Stenström, Th.: Biochem. Z. **58**, 472 (1914). — [26] Laurin, E.: Ebenda **82**, 87 (1917). — [27] Lasch, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **124**, 231 (1927). — [28] Ehrismann, S.: Dtsch. med. Wschr. **1927**, S. 1263.

Neben der starken Blutzuckersteigerung zeichnet sich das Adrenalin noch durch eine erhöhte Acetonausscheidung unter bestimmten Versuchsbedingungen aus. Die Angaben von A. B. Andersen und M. D. Andersen[29] konnten an unserem Institut bestätigt werden. Diese Autoren arbeiteten mit Phloridzin vergifteten Ratten, die sich dadurch auszeichnen, daß sie nach entsprechender Dosierung eine Acidosis bekommen. Das Futter der Versuchstiere bestand aus Sonnenblumensamen (bei 200,0 g Gewicht 7,5 g), als Getränk erhielten sie je 10 ccm Leitungswasser durch die Sonde. Die Erzielung eines chronischen Phloridzindiabetes erfolgte durch subcutane Injektionen einer 2,5 %igen Phloridzinemulsion (625 mg Phloridzin in 25 ccm Olivenöl verrieben), und zwar an den ersten beiden Tagen je 0,4 ccm/100 g Tier, an den folgenden Tagen je 0,2 ccm/100 g Tier. Die Harnuntersuchung erfolgte vom 3. Tage an.

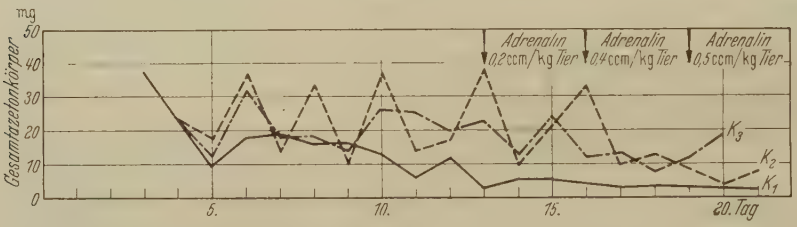


Abb. 3.

Die Tiere erhielten zwecks Bestimmung der Ketonurie morgens 5 ccm Aqua dest. pro 100 g Tier mit der Schlundsonde verabreicht, danach wurde von 3 Tieren die Diurese während 3 Stunden verfolgt.

Nach mehreren Tagen erfolgte dann die Adrenalingabe in der Konzentration 1 : 10000 0,5 ccm/100 g Tier subcutan. Anschließend wurde die quantitative Bestimmung des Acetons noch mehrere Tage durchgeführt. Der Acetonnachweis im Harn erfolgte nach der Methode von van Slyke. Nach entsprechenden Kontrolluntersuchungen kann angenommen werden, daß die mit Phloridzin vergifteten Tiere genau so wie die normalen Tiere auf Adrenalin reagieren.

Nach den Versuchsdaten, die in Tabelle 6 angegeben sind, bewegt sich vor der Adrenalininjektion während 8 Tagen der Acetonwert in 5 ccm Harn zwischen 0,5—1,6 mg. Am 10. Versuchstage wurden 0,5 ccm Adrenalin 1 : 10000/100 g Tier subcutan gespritzt, wonach eine deutliche Acetonmehrausscheidung am 11., 12. und 13. Tag beobachtet werden konnte. Ferner war die Diurese erhöht.

Von den untersuchten Substanzen konnten ähnliche Verhältnisse nur beim Corbasil beobachtet werden.

Hier wurden am 5. Versuchstag 0,05 ccm/100 g Tier der 1 %igen Corbasillösung gespritzt. Am Tage danach stieg der Acetonkörpergehalt

[29] Andersen, A. B., u. M. D. Andersen: Biochem. J. **1927**, 21 II.

in 5 ccm Harn von 1,9 mg auf 8,4 mg, letzterer sank am folgenden Tage auf 2,1 mg herab.

Sympatol, Ephedrin, Ikoral und Veritol verursachten keine Aceton-Mehrausscheidung nach der in Tabelle 6 angegebenen Dosierung.

Erwähnt sei noch, daß es uns nicht gelang, an Katzen bei vorwiegender Fleischernährung nach Adrenalin eine Mehrausscheidung von Aceton im Harn zu erzeugen. Die Tiere erhielten zu diesem Zweck täglich 80 g gekochtes Fleisch, 15 g Mehl, 50 g Magermilch. Die Acetonbestimmung erfolgte nach der Methode von Lauersen[30] stufenphotometrisch. Die graphische Darstellung der Acetonkörperwerte während der Versuchszeit gibt Abb. 3 an.

Versuche über die zentral erregende Wirkung bei den Adrenalin-Ephedrinkörpern.

In den letzten Jahren ist man stark für die Weckwirkung der Adrenalin-Ephedrinkörper interessiert, besonders seit der Zeit, als Hauschild[31] das Pervitin in die Therapie einführte. Diese Substanz, die wie das Benzedrin in Amerika eine bedeutende Rolle spielt, erinnert stark an die Wirkung

[30] Lauersen, F.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1187. — [31] Hauschild, F.: a. a. O.

Tabelle 6. Versuche mit Phloridzin-vergifteten Tieren (Ratten).

Substanz	Zahl der Tiere	Konzentration	Diurese, Acetonkörper in 5 ccm Harn	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14. Tag
Adrenalin ...	3	1 : 10000, 0,5 ccm/100 g Tier	Diurese (ccm)	15	14	15	17	16	17	16	20	21	12	12	
			Acetonkörper (mg)	1,0	0,8	0,5	0,9	1,4	1,6	1,6	3,5	4,2	3,8	2,9	
Corbasil	3	1 %ig 0,5 ccm pro 100 g Tier	Diurese (ccm)	28	27	19	14	20	26						
			Acetonkörper (mg)	0,6	1,0	1,9	8,4	2,1	1,7						
Sympatol ...	3	2 %ig 1 ccm pro 100 g Tier	Diurese (ccm)	14	15	13	14	14	15	14	16	15	14	12	11
			Acetonkörper (mg)	1,1	0,8	0,7	0,5	1,4	1,5	1,6	1,7	1,6	1,0	1,2	1,3
Ikoral	3	0,5 %ig 0,5 ccm pro 100 g Tier	Diurese (ccm)	19	18	27	28	18	18						
			Acetonkörper (mg)	1,5	1,3	0,9	0,7	0,6	0,8						
Veritol	3	0,4 %ig 1 ccm pro 100 g Tier	Diurese (ccm)	25	21	20	21	20	18						
			Acetonkörper (mg)	2,7	1,3	0,9	0,6	0,6	0,4						
Ephedrin ...	3	5 %ig 0,5 ccm pro 100 g Tier	Diurese (ccm)	16	17	15	16	17	17	16	17	2,5!	14	13	17
			Acetonkörper (mg)	2,2	1,6	1,3	1,0	1,8	1,7	1,9	1,8	1,8	1,5	1,0	0,8

des Ephedrins in bezug auf Blutdruck und Milzwirkung, wie die vorhergehenden Versuche gezeigt haben. Auf Grund seiner Weckwirkung wurde das Ephedrin von O. Jarota im Jahre 1930 als Therapeuticum bei der Narkolepsie angewandt. Wenige Jahre später konnten amerikanische Ärzte (Prinzmetal, Bloomberg[32]) nachweisen, daß das Benzedrin dreimal stärker wirkt bei der Behandlung der Narkolepsie als das Ephedrin, so daß seit dieser Zeit immer nach neuen Weckaminen gesucht wurde.

Für unsere Untersuchungen wurden die einzelnen Substanzen in dieser Hinsicht durchgeprüft, um festzustellen, bei welcher von ihnen die zentral erregende Wirkung zuerst ausgeprägt ist, wenn man die Adrenalin-Ephedrinkörper auf Grund ihrer chemischen Konstitution entsprechend einordnet.

Methode.

Es wurde so vorgegangen, daß je zwei Ratten die gleiche Konzentration von einem der Stoffe intravenös oder intraperitoneal injiziert wurde. Traten keine Anzeichen einer motorischen Erregung oder Unruhe auf, so wurde die Konzentration gesteigert. Auf diese Weise sind die Daten der Tabelle 7 entstanden.

Beim Adrenalin und beim Corbasil traten bei therapeutischen Dosen und ebenso bei der Dosis letalis keine Zeichen einer Unruhe oder verstärkten Motorik auf. Beim Sympatol mußte beträchtlich mit der Dosis in die Höhe gegangen werden (1500 mg/kg Tier), um die Dosis letalis zu erreichen. Auch hier konnte keine Abweichung vom normalen Verhalten der Tiere beobachtet werden; mit dem Ikoral und dem Suprifen verhält es sich genau so, nur mit dem Unterschiede, daß beim Ikoral die Dosis letalis wesentlich tiefer als beim Sympatol und Suprifen lag. Diese betrug beim Ikoral 10 mg i. v./kg Tier, beim Suprifen 800 mg i. p./kg Tier.

Geringe Dosen von Veritol bis zu 20 mg/kg Tier sind in bezug auf zentrale Erregung ohne Wirkung, ab 60 mg tritt eine motorische Unruhe ein. Diese zeigt sich durch Nagetrieb, Putzbewegung, Manegentrieb. Bei Steigerung dieser Konzentration auf 100 mg/kg Tier treten diese Symptome noch stärker in den Vordergrund.

Beim Ephedrin (25 mg/kg Tier, i. v.) ist nur eine mäßige Unruhe der Tiere zu beobachten; diese läßt sich durch Erhöhung der Dosis deutlich steigern. Bei 100—120 mg/kg Tier lassen sich erhebliche Effekte auf die motorische Erregbarkeit erzielen. Die Tiere zeigen Nagetrieb und Manegentrieb.

Am stärksten in dieser Untersuchungsreihe wirken zentral erregend das Benzedrin und das Pervitin. Tabelle 7 gibt die injizierten Mengen an und läßt danach den Effekt erkennen.

Die niedrigste Dosis, bei der die motorische Unruhe gerade beginnt, ist bei beiden Substanzen ungefähr gleich, sie beträgt für Benzedrin 0,5 mg pro kg Tier, für Pervitin 0,6 mg/kg Tier. Ebenso sind die letalen Dosen annähernd gleich (Benzedrin 50 mg/kg Tier, Pervitin 45 mg/kg Tier).

[32] Prinzmetal, Bloomberg: a. a. O.

Tabelle 7.

Substanz	Zahl der Tiere	Dosis mg/kg Tier	Injizierte mg/Tier	Applikat.-Art i. v. = intravenös i. p. = intraperitoneal	Verhalten der Tiere R = ruhig L = lebhaft
Adrenalin ..	2	2	0,56	i. p.	R
Corbasil	2	1,2	2,28	i. p.	R
Sympatol ..	2	60,0	8,1	i. v.	R
	2	180,0	25,0	„	„
	2	480,0	63,0	i. p.	„
	2	960,0	182,0	„	„
	2	1500,0	400,0	„	„
Ikoral Base B	2	1,0	0,135	i. v.	R
	2	10,0	1,45	„	„
Suprifen ...	2	10,0	1,75	i. v.	R
	2	100,0	11,25	„	„
	2	200,0	30,0	i. p.	„
	2	400,0	60,0	„	„
	2	800,0	116,0	„	„
Veritol	2	2,0	0,2	i. v.	R
	2	4,0	0,4	„	„
	2	10,0	1,3	„	„
	2	20,0	2,4	„	„
	2	60,0	7,2	„	L ++
	2	120,0	20,4	i. p.	L +++
	2	200,0	30,0	„	R
Ephedrin ..	2	25,0	2,9	i. v.	L +
	2	100,0	12,5	„	L +++
	2	200,0	15,5	i. p.	L +++
Benzedrin .	2	0,5	0,08	i. v.	L +
	2	2,5	0,325	„	L ++
	2	5,0	0,75	„	L +++
	2	10,0	1,5	„	L +++
	2	15,0	2,0	„	L +++
	2	30,0	5,25	i. p.	L ++++
	2	50,0	8,0	„	L ++++
Pervitin ...	2	0,6	0,09	i. v.	L +
	2	1,5	0,15	„	L ++
	2	7,5	1,0	„	L +++
	2	15,0	2,25	„	L ++++
	2	30,0	4,35	„	L ++++
	4	45,0	6,8	i. p.	L ++++

Schlußbetrachtung.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen ist eindeutig zu ersehen, daß das Corbasil als einzige Substanz der Adrenalin-Ephedrinkörper in quantitativer und qualitativer Hinsicht dem Adrenalin nahe steht.

Die charakteristischen Symptome bei der Stoffwechselwirkung (Blutzuckersteigerung, Aceton-Ausscheidung beim Phloridzin-Diabetes) des Adrenalins können auch durch das Corbasil hervorgerufen werden. Im gleichen Maße wie das Adrenalin ruft es mit Kokain zusammen und bei der Dosis letalis ein hochgradiges Lungenödem an Ratten hervor. Gegen-

über dem Kokain und Gynergen zeigt es nach Schaumann die gleichen qualitativen Effekte wie das Adrenalin.

Ganz allgemein kann also gesagt werden, daß nur den Dioxyverbindungen (Brenzkatechin-Derivaten) eine Adrenalinwirkung mit den spezifischen Symptomen zukommt. Diese Tatsache hat Schaumann deutlich durch die Untersuchungen der Dioxy-Ephedrine zeigen können, wobei er dann auch auf das Corbasil gelenkt wurde.

Nur der eine Unterschied besteht zwischen beiden Substanzen, daß das Corbasil zur Erzielung gleicher Wirkung 6—8mal höher dosiert werden muß, was in der Konzentration der Handelspackung berücksichtigt ist.

Nach unseren Untersuchungen scheint das Ikoral (Base B) in seiner Wirkung dem Adrenalin näher zu stehen als das Sympatol, was aus dem Vergleich der Blutdruckkurven, der Dosierung und der Giftigkeit beider Substanzen hervorgeht. Die Base B des Ikorals ruft schon bei 10 mg/kg Tier Ratte i. v. ein hochgradiges Lungenödem hervor, welches an Stärke dem des Adrenalins gleichkommt, während Sympatol sehr hoch dosiert werden muß (1500 mg/kg Tier i. p.), um ein Lungenödem, das aber nur mäßig ausgebildet ist, im Tierversuch zu erzeugen. Allein aus diesen Versuchen geht schon die sehr viel mildere Wirkung des Sympatols gegenüber der Base B des Ikorals hervor. Mit Kokain zusammen gelang es wohl, beim Sympatol ein Lungenödem zu erzeugen, aber nicht bei der Base B des Ikorals.

In therapeutischen Dosen rufen beide Substanzen gegenüber dem Adrenalin und Corbasil keine Hyperglykämie hervor, so daß auf Grund der chemischen Konstitution gesagt werden kann, daß im Adrenalinmolekül durch Wegnahme einer OH-Gruppe der Hormoncharakter des Adrenalins verlorengeht. Alle die vier eben besprochenen Substanzen haben auch bei hoher Dosierung (dos. let.) keinen Einfluß auf die cerebrale Erregbarkeit der Tiere.

Die jetzt folgenden Substanzen (s. Tabelle 2) Suprifen, Veritol usw. zeigen in bezug auf Blutdruck und Milzwirkung schon eine deutliche Ähnlichkeit mit der Wirkung des Ephedrins, während das Sympatol und die Base B des Ikorals dem Adrenalin noch sehr nahestehen.

Beim Benzedrin und Pervitin steigert sich die Kreislaufwirkung noch mehr gegenüber Ephedrin in bezug auf die Dauer.

Da diese Substanzen sich allein auf Grund ihrer chemischen Konstitution weit vom Adrenalin unterscheiden, war nicht anzunehmen, daß ihnen die typischen Adrenalineffekte, eine starke und kurzdauernde Blutdruckwirkung, Hyperglykämie, erhöhte Acetonausscheidung und Lungenödem, zukommen, was in den entsprechenden Versuchen immer wieder bestätigt werden konnte.

Von der Base B des Ikorals abgesehen, steigt die Dosis letalis bis zum Ephedrin stark an, während sie von dort wieder abfällt. Beim Benzedrin und Pervitin ist diese ungefähr gleich (Benzedrin 50 mg/kg Tier, Pervitin

45 mg/kg Tier Ratte), ebenso die unterste wirksame Dosis in bezug auf die motorische Erregbarkeit. Es besteht also in dieser Hinsicht zwischen den beiden zuletzt genannten Substanzen kein Unterschied und auch am Kreislaufpräparat zeigen beide eine ähnliche Wirkung. Wenn auch beim Veritol bei 60 mg kg Tier ein deutlicher Effekt auf die zentrale Erregung zu erreichen ist, so kann gesagt werden, daß die zentrale Wirksamkeit dieser Stoffgruppen besonders stark bei den Substanzen ausgebildet ist, die keine Hydroxylgruppe im Phenylkern besitzen, und dann noch gesteigert werden kann, wenn auch die OH-Gruppe in der Seitenkette des Ephedrinmoleküls entfernt wird.

So besteht in dieser Hinsicht ein entgegengesetztes Verhalten im Vergleich zur Blutdruckwirkung. Die Monooxy-Ephedrinderivate stehen dem Adrenalin schon näher als das Ephedrin selbst, noch mehr die Dioxy-Ephedrinverbindungen. Bei Abnahme der OH-Gruppen ist wohl eine Kreislaufwirkung vorhanden, doch prägt sich dadurch deutlicher die zentrale Erregung aus.

Zusammenfassung.

1. Von den besprochenen Adrenalin-Ephedrinkörpern steht das Corbasil qualitativ dem Adrenalin am nächsten.

2. Die Base B des Ikorals steht dem Adrenalin näher als das Sympatol.

3. Adrenalin, Corbasil, Base B des Ikorals und das Sympatol erzeugen an der weißen Ratte bei letaler Dosierung ein Lungenödem.

4. Mit Kokain zusammen tritt ein Lungenödem nur beim Adrenalin, Corbasil und Sympatol auf.

5. Benzedrin und Pervitin wirken quantitativ und qualitativ gleich auf die Erregbarkeit der Versuchstiere.

6. Beim Pervitin und Benzedrin ist nach entsprechender Dosierung eine lang anhaltende Blutdruckwirkung und Milzkontraktion zu beobachten.

Das Sympatol hat uns die Firma Boehringer Sohn, Nieder-Ingelheim, die Base B des Ikorals die I. G., Elberfeld, das Veritol und Ephedrin die Firma Knoll A.-G., Ludwigshafen a. Rh., das Pervitin die Firma Temmler, Berlin, freundlicherweise zur Verfügung gestellt, wofür wir an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

Aus der Medizinischen Klinik (St. Litzner) des Heinrich-Braun-Krankenhauses, Zwickau i. Sa.

Die Prüfung der Gallenwirksamkeit des Divanillal-cyclohexanons (Flavugal) im Duodenalsondenversuch.

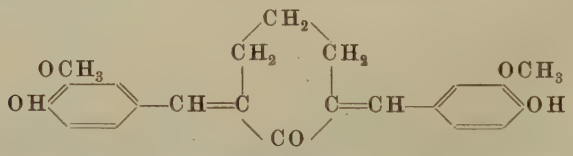
Von

Dr. **Heinrich Eucker.**

(Eingegangen am 18. Mai 1941.)

Umfaßt der heutige Arzneischatz auch zahlreiche gallenwirksame Mittel der verschiedensten Herkunft, die sowohl auf die Cholerese, die Gallenbildung in der Leber, oder cholagogisch, d. h. fördernd auf die Bewegung der gebildeten Galle (Brugsch) wirken, so entstammen eine ganze Anzahl dieser Stoffe ausländischen Drogen. Da gerade die heutigen Verhältnisse gebieterisch den Verzicht auf ersetzbare Importdrogen verlangen, besteht mehr als je die Notwendigkeit, einheimische Drogen oder synthetische Stoffe der Heilkunde nutzbar zu machen. Eine Anzahl synthetisch hergestellter Vanillinderivate wurden systematisch auf ihre Gallenwirksamkeit überprüft[1]. Eine dieser Substanzen zeigte im Versuch am Hund besonders gute choleretische Wirksamkeit, so daß sie uns zur systematischen Prüfung im Duodenalsondenversuch am Menschen überlassen wurde. Der Wirkstoff ist chemisch genau definiert als Divanillal-cyclohexanon (Flavugal)[2] mit einem Schmelzpunkt von 178—179°. Die Substanz ist löslich in Alkohol, in Wasser und unter Beigabe von 0,218 NaOH zu je 1 g.

Strukturformel des Divanillal-cyclohexanons:



Die pharmakologische Prüfung auf magen- und darmreizende Wirkung an Kaninchen hatte die Unschädlichkeit der Substanz auf die Schleimhaut ergeben. Beim Hund hatte sowohl die intravenöse als auch perorale Verabreichung eine beträchtliche choleretische als auch cholagoge Wirkung gehabt. Nebenwirkungen konnten nach Verabfolgung auch hier nie beobachtet werden. Auf Grund aller dieser Tatsachen entschlossen wir uns gern zur Prüfung der Gallenwirksamkeit dieser Substanz im Duodenalsondenversuch am Menschen.

Der Wirkstoff wurde in einer großen Versuchsreihe sowohl peroral als auch intravenös verabfolgt. Niemals wurden Schädigungen oder Zeichen

---

[1] Vincke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 733 (1938). — [2] Chemische Fabrik Tempelhof Preuß & Temmler, Berlin.

der Unverträglichkeit beobachtet, so daß wir späterhin unsere Versuche auch bei Patienten durchführten, bei denen wegen einer Erkrankung der Leber oder der Gallenwege eine diagnostische Duodenalsondierung angezeigt war. Es fanden sich hierbei Fälle von chronischer Cholecystitis, Cholangitis mit Steinbildung der Gallenwege sowie Fälle von Ikterus verschiedenster Genese. Ausgenommen blieben stets Fälle, die den Verdacht auf Verschlußikterus erweckten. Bei der kritischen Betrachtung der errechneten Durchschnittswerte muß dehalb stets berücksichtigt werden, daß ein großer Teil der Einzelergebnisse von Untersuchungen stammt, bei denen krankhafte Veränderungen der Leber und der Gallenwege bestanden. Diese Tatsache gibt dem Gesamtresultat eine wesentlich höhere Bedeutung.

Nachdem wir uns von der Gallenwirksamkeit überzeugt hatten, wurde das Präparat auch in einer Anzahl klinischer Fälle mit sichtlichem Erfolg angewandt. Doch soll hierüber zu gegebener Zeit an anderer Stelle berichtet werden.

Die einzige Möglichkeit, am Menschen die Gallenwirksamkeit eines Stoffes zu prüfen, d. h. die ausgeschiedenen Gallenmengen vor und nach Verabfolgung des zu prüfenden Mittels zu bestimmen und zu untersuchen, stellt die Duodenalsondierung mittels der im Jahre 1900 durch Einhorn und Groß[3] angegebenen Duodenalsonde dar, die als diagnostische Methode schon lange für die Klinik unentbehrlich geworden ist. Die Choledochusfistel ist wohl der einzige Weg, Galle rein und quantitativ zu gewinnen; bei chronischer Gallenfistel unterliegt der Gallenfluß aber großen Schwankungen, zudem wird der Kreislauf gallefähiger Stoffe unterbrochen. Auch lassen sich die Verhältnisse und Ergebnisse des Tierversuchs nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen, da ja schon bei verschiedenen Tierarten die größten Wirkungsunterschiede festzustellen sind (Stranski u. a.)[4, 5].

Am choledochusdrainierten Menschen verbieten sich solche Untersuchungen schon aus äußeren Gründen fast stets. So bleibt nur die mit großen Fehlern und Mängeln behaftete Methode der Duodenalsondierung zur Untersuchung und wissenschaftlichen Prüfung der Gallenwirksamkeit der verschiedensten Stoffe beim Menschen übrig. Wegen der großen methodischen Mängel vermögen Einzelergebnisse oder kleinere Versuchsreihen nichts über die Wirksamkeit auszusagen. Lediglich die Stetigkeit und Konstanz der Ergebnisse größerer Untersuchungsreihen besagt daher etwas über die Wirksamkeit.

Vermischung der abgeflossenen und auszuhebernden Galle mit Magen-, Duodenal- und Pankreassekret sowie Speichel, Verlagerung des Sondenkopfes im Duodenum infolge Peristaltik oder Körperbewegungen, spontane Kontraktionen der Gallenblase, Duodenalperistaltik und Hyperventilation vermögen Änderungen

---

[3] Arch. Verdgskrkh. 1928, Bd. 24. — [4] Z. exper. Med. 1929, Nr. 66. — [5] Biochem. Z. **155**.

der Gallensekretion und Gallenbewegung zu bewirken und vorzutäuschen. Auch bestehen große individuelle Schwankungen, so daß es fast unmöglich erscheint, quantitative Abgrenzungen vorzunehmen, geschweige denn choleretische und cholagoge Wirkung streng zu trennen. Auch die Anwendung der Gastroduodenaldoppelsonde macht nicht frei von diesen Mängeln.

Verstehen wir mit Brugsch unter Cholerese eine Bildung der Galle in der Leber und unter Cholokinese im Gegensatz hierzu lediglich die Bewegung der vorgebildeten Galle, so erhebt sich trotz aller oben aufgeführter Schwierigkeiten doch die Frage, wie wohl Cholerese und Cholokinese im Duodenalsondenversuch voneinander abzugrenzen seien. Bei einer Steigerung der Cholerese hätte man nur vermehrtes Abfließen von Galle gleichen oder erhöhten Trockengewichtes und Bilirubingehaltes zu verlangen, nur bei gleichbleibendem oder erhöhtem Trockengewicht ist mit Stranski [6]), Höeffding [7]) u. a. A. von einer echten Cholerese zu sprechen, in anderen Fällen nur von toxischer Reizung des Leberparenchyms. (Phenylchinolincarbonsäure). Bei Förderung der Cholokinese wäre hingegen ein Abfließen hochkonzentrierter Galle in gleicher oder erhöhter Menge zu erwarten.

Die Versuchsanordnung mußte sowohl die Bestimmung der Gallenmenge, der Bilirubinmenge und des Trockengewichtes im Gesamten als auch in kleineren Zeitabständen — bei einsetzender Gallenblasenentleerung — gestatten. In einer Versuchsreihe wurden die zehnminütlichen Saftmengen vor und nach Darreichung des Mittels untersucht, wegen zu geringer Saftmenge mußte hierbei allerdings auf die Bestimmung der Trockensubstanz verzichtet werden. In der anderen Versuchsreihe wurden in der Gesamtmenge vor und nach Gabe des Mittels Bilirubingehalt und Trockensubstanz sowie Saftmenge bestimmt und verglichen.

Nach typischer Lagerung der Sonde am nüchternen Patienten und Kontrolle der Sondenknopflage nach den Kriterien — Abfließen gelben Saftes und alkalische Reaktion desselben — wurde während einer Zeitdauer von 30—50 Minuten (aus äußeren Gründen kamen gewisse zeitliche Unterschiede vor) die Nüchterngalle in Zehnminutenportionen gesammelt, nach Darreichung des Mittels wurden dann in gleicher Weise die Zehnminutenportionen während einer Zeitdauer von 90—120 Minuten gewonnen und auf Saftmenge, Bilirubinkonzentration und Bilirubinmenge der einzelnen Portion untersucht.

In der anderen Versuchsreihe wurde die gesamte Nüchterngalle, die innerhalb von 30 Minuten nach richtiger Sondenlage abfloß, mit der Galle, die nach Darreichung des Mittels während einer Zeitdauer von 60 Minuten abfloß, nach Menge, Bilirubingehalt und Trockengewicht verglichen. In allen Fällen wurde die Änderung für Menge, Bilirubinkonzentration sowie Bilirubinmenge bzw. Trockengewicht in Prozenten errechnet.

Der Bilirubingehalt wurde nach Hymanns van den Bergh-Autenrieth bestimmt. Es zeigte sich hierbei, daß geringe Beimengungen von Divanillal-cyclohexanon die Diazoreaktion nach Hymanns van den Bergh beeinträchtigten. Im blinden Versuch wurde festgestellt, daß die Stärke der Diazoreaktion gleicher Bilirubinkonzentrationen nach Zusatz von Flavugal zu einer der Bilirubinlösungen in dieser abnahm. Diesem Befund konnte aus äußeren Gründen nicht weiter nachgegangen werden.

Bei der Durchsicht der Tabellen nach peroraler Darreichung des Mittels muß also berücksichtigt werden, daß die Bilirubinwerte im Saft, der ja mit dem Mittel in geringer Menge vermischt sein muß, tatsächlich höher

[6] l. c. — [7] Dtsch. med. Wschr. **1936**, II.

liegen. Bei intravenöser Verabfolgung ist wohl weniger mit einer solchen Möglichkeit zu rechnen.

Das Trockensubstanzgewicht von 5 ccm Saft wurde in üblicher Weise bestimmt. Aus großen Versuchsreihen blieben uns einschließlich der Kontrollversuche insgesamt 68 verwertbare Sondenbefunde, bei denen die Ausdeutbarkeit des Sondenversuchs in keiner Weise beeinträchtigt erschien.

Versuchsergebnisse.

I. Kontrollversuch ohne Darreichung des Präparates.

Zur Kontrolle der Versuchsanordnung wurden Leerversuche durchgeführt, deren Ergebnisse die untenstehende Tabelle angibt.

Durchschnittswerte der Zehnminutenportionen.

	I: 30 Minuten nach richtiger Sondenlage			II: Folgende 90 Minuten		
	Saft ccm	Bilirubin-konzentration mg%	Bilirubin-menge mg	Saft ccm	Bilirubin-konzentration mg%	Bilirubin-menge mg
1.	14.33	20,48	2,935	14,55	20,48	2,981
2.	4,9	20,45	1,002	2,84	3,15	0,093
3.	2,93	7,38	0,2163	2,02	16,19	0,3271
4.	1,13	27,0	0,3051	0,79	38,38	0,3032
5.	4,57	7,9	0,361	2,91	6,77	0,197
6.	15,33	8,303	1,273	5,47	9,68	0,53
7.	15,33	8,27	1,268	7,66	12,2	0,957
8.	2.33	3,11	0,075	1,33	1,93	0,0257

Mittelwerte:

	Saftmenge ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Bilirubinmenge mg
I. in den ersten 30 Minuten nach richtiger Sondenlage	7,61	12,212	0,9294
II. in den folgenden 90 Minuten	4,7	14,4	0,677

Der Sondenreiz klingt demzufolge ab. Die geringe Erhöhung der Bilirubinkonzentration ist wohl durch Abfließen geringer Menge hochkonzentrierter Blasengalle in vereinzelten Fällen erklärbar. Sie beweisen, daß der Sondenreiz allmählich abklingt, eine Tatsache, die den Erfahrungen nahezu aller Autoren entspricht. Eine in allen Fällen einer genügend großen Versuchsreihe zu beobachtende Steigerung der Gallemengen, der Bilirubinkonzentration und der Bilirubinmengen nach Darreichung des zu prüfenden Mittels vermag daher sehr wohl auf eine Gallenwirksamkeit des Mittels bezogen zu werden. Zu berücksichtigen ist hierbei stets, daß die tatsächlichen Nüchternwerte niedriger liegen als die Werte der 30–50 Minuten langen Nüchternperiode vor Darreichung des Mittels.

Die Methodik wurde noch mittels eines anerkannt choleretisch wirkenden Mittels (dehydrocholsaures Natrium) überprüft und zur Feststellung der Gallenwirksamkeit eines Stoffes für geeignet befunden. Im Versuch mit dehydrocholsaurem Natrium ließ sich bei Berücksichtigung obiger Erwägungen die vorwiegend choleretische Wirkung desselben direkt unter Beweis stellen.

II. Perorale Darreichung mit Bestimmung des Trockengewichtes.

Nach richtiger Sondenlage und Bestimmung der Nüchternmenge in 30 Minuten wurden 2 Dragées Flavugal oder die entsprechende Gewichtsmenge der Reinsubstanz mit 5 ccm H_2O im Mörser zerkleinert und aufgeschlemmt, dann mittels Spritze in den Sondenschlauch eingefüllt. Um das Mittel aus dem Schlauch zu entfernen, wurden etwa 5—10 ccm Luft nachgespritzt, der Schlauch 5 Minuten lang abgeklemmt und hochgehalten. Das alkalische Milieu des Duodenums konnte der Lösung und Resorption des Mittels nur förderlich sein. Danach wurde in üblicher Weise 60 Minuten lang die abfließende Gallenmenge aufgefangen. Die Gallenmengen vor und nach Verabreichung des Präparates wurden auf Menge, Bilirubinkonzentration und Trockensubstanzgewicht untersucht. Da es möglich erschien, daß gröbere Teilchen der Dragées im Schlauch hafteten und die Bestimmung des Trockengewichtes störten, wurde die Gallenmenge milde zentrifugiert und 5 ccm Saft zur Bestimmung der Trockensubstanz den obersten Saftschichten entnommen. So kann vielleicht ein zu geringes Trockengewicht vorgetäuscht werden, eine Tatsache, die in Anbetracht des immer erhöhten Trockengewichtes absolut zu vernachlässigen ist.

Perorale Darreichung des Präparates (2 Dragées)
(Bestimmung der Trockensubstanz)

	in 30 Minuten vor Darreichung			in 60 Minuten nach Darreichung			Änderung nach Darreichung in Prozenten		
	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm
1.	7,7	0,275	38,6	49,0	1,725	52,5	+ 218,0	+ 527,3	+ 36,0
2.	7,8	1,5	69,7	31,5	2,25	77,5	+ 102,0	+ 50,0	+ 11,2
3.	10,0	11,25	96,0	30,0	28,5	143,4	+ 50,0	+ 153,3	+ 49,5
4.	8,0	15,25	109,0	46,0	20,0	114,0	+ 187,5	+ 31,1	+ 4,5
5.	24,0	7,5	104,8	60,0	23,75	121,2	+ 25,0	+ 216,6	+ 15,6
6.	25,0	0,3	60,0	90,0	27,0	124,0	+ 80,0	+ 8810,0	+ 106,6
7.	8,0	32,375	77,2	40,0	57,00	159,6	+ 150,0	+ 76,6	+ 106,7
8.	16,0	13,25	126,0	39,0	27,75	146,2	+ 21,8	+ 109,4	+ 16,0
9.	12,0	13,875	87,0	32,0	15,75	102,2	+ 33,0	+ 13,5	+ 17,4
10.	22,0	7,5	98,6	46,0	15,0	109,0	+ 4,5	+ 100,0	+ 10,5
11.	16,0	10,0	79,3	36,0	11,7	103,3	+ 12,5	+ 17,0	+ 30,0
12.	10,0	2,625	58,8	28,0	5,5	84,1	+ 40,0	+ 113,3	+ 43,3
13.	25,0	4,75	108,0	80,0	8,75	118,8	+ 60,0	+ 86,0	+ 10,0

Mittelwerte:

	Saftmenge ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm
30 Minuten vor Darreichung...	14,73	9,265	85,61
60 Minuten nach Darreichung..	46,74	18,821	111,98

Hieraus berechnete Steigerung nach peroraler Darreichung als Mittel von 13 Versuchen:

Saftmenge	um	58,6%
Bilirubinkonzentration	„	103,1%
Trockensubstanz	„	30,8%
Bilirubinmenge vor Darreichung		1,365 mg
„ nach Darreichung		4,398 mg
also Steigerung um 222,2%.		

Als Mittel von 13 Versuchen ergab sich eine Steigerung der in entsprechenden Zeiten abgesonderten Saftmengen um 58,5%, der Bilirubinkonzentration um 103,1% und der Trockensubstanz um 30,8%. Die eindeutige Wirksamkeit auf die Cholerese erscheint sicher. Die stark erhöhte Konzentration des Bilirubins, verbunden mit Erhöhung der Trockensubstanz, sprechen auch für eine Förderung des Gallenflusses. Unter 11 Versuchen dieser Reihe, bei denen im Anschluß noch eine Gallenblasenentleerung mittels $MgSO_4$ mit positivem Ergebnis durchgeführt wurde, erwies sich in 6 Fällen die Konzentration des Bilirubins im Saft nach Flavugal als fast $^1/_2$ oder mehr als $^1/_2$ so stark wie die der Blasengalle nach $MgSO_4$-Reflex. Diese Tatsache erscheint mir durch Annahme vermehrten Abfließens von Blasengalle und Beimischung zur Lebergalle erklärlich, so daß dem Präparat auch eine cholagogische Wirkung beizumessen ist. Die Steigerung der Trockensubstanz beweist eindeutig, daß es sich bei der Vermehrung der Saftmenge um eine echte Cholerese und nicht um eine toxische Reizung der Leber gehandelt hat. In gleichem Sinne und für eine cholagogische Wirkung spricht die um 222,2% gesteigerte Bilirubinmenge. Sie kann bei einer Steigerung der Saftmenge um 58,6% nur vorwiegend einem vermehrten Abfließen stärker konzentrierter, also eingedickter Galle zukommen, zumal auch die Bilirubinkonzentration um 103,1% zugenommen hat. Unter dem Einfluß des Mittels kam es also außer der Förderung der Cholerese auch zu einer vermehrten Ausscheidung von Blasengalle.

III. Perorale Darreichung

(Bestimmung der Zehnminutenportionen).

In gleicher Weise wie bei den Kontrollversuchen wurde der Durchschnitt der Zehnminutenportionen der ersten 30 Minuten nach richtiger Sondenlage bestimmt, dann das Mittel in üblicher Weise mittels Spritze in den Schlauch eingeführt, 5 ccm Luft nachgespritzt und für die Dauer von 5 Minuten abgeklemmt und hochgehalten. Für eine schnelle Lösung und Resorption war die alkalische Reaktion des Duodenums mit förderlich. Nach Abklemmen und Hochhalten wurde begonnen, die während der Zeitdauer von 90—120 Minuten abfließenden Zehnminutenmengen der Galle einzeln aufzufangen.

Der stärkste Gallenfluß wurde fast immer zwischen der 50. und 80. Minute beobachtet. Zu gleicher Zeit, zwischen der 60. und 90. Minute, auch die stärkste Bilirubinkonzentration. Da nach 60—90 Minuten noch eine so starke Steigerung

des Gallenflusses erfolgte, ist bewiesen, daß die Wirkung des Mittels sehr protrahiert ist, ein Umstand, dem zweifellos eine besondere therapeutische Bedeutung zukommt.

Perorale Darreichung des Präparates
(Bestimmung der Zehnminutenportionen)

	I. der ersten 30 Minuten nach richtiger Sondenlage			II. der folgenden 90—120 Minuten nach Darreichung des Präparates			III. Änderung in Prozenten		
	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Bilirubinmenge mg	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Bilirubinmenge mg	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Bilirubinmenge mg
1.	2,17	0,356	0,0078	9,18	1,875	0,1721	+ 323	+ 426	+ 2106
2.	16,1	0,456	0,0735	19,2	0,968	0,186	+ 19,7	+ 112	+ 153
3.	4,16	12,45	0,518	8,4	10,63	0,893	+ 102	— 14,6	+ 72,0
4.	11,3	0,93	0,1053	16,7	7,54	1,245	+ 49,5	+ 710,7	+ 1081,6
5.	6,2	3,05	0,1891	8,125	11,716	0,954	+ 31,05	+ 284,1	+ 404,4
6.	6,3	1,37	0,0865	8,7	18,98	1,738	+ 38,0	+ 1292,7	+ 1909
7.	1,15	0,911	0,01045	2,55	3,16	0,08086	+ 121,7	+ 246,8	+ 676,7
8.	3,33	0,55	0,01846	8,02	11,754	0,9427	+ 140,8	+ 2037	+ 5006
9.	6,2	0,0267	0,00166	12,3	9,748	1,199	+ 98	+ 3640	+ 7210,8
10.	5,1	20,14	1,027	8,99	7,345	0,621	+ 96	— 63,5	+ 39,5
11.	5,6	7,65	0,4285	6,46	12,92	0,835	+ 15,4	+ 68,9	+ 94,8

Mittelwerte:

	Saftmenge ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Bilirubinmenge mg
I. der ersten 3 Zehnminutenportionen	6,14	3,636	0,223 3
II. der folgenden 9—12 Zehnminutenportionen	9,42	8,556	0,806 06

Hieraus berechnete Steigerung nach peroraler Darreichung von 2 Tabletten:

Saftmenge ..... + 53,4%
Bilirubinkonzentration ..... + 135,3%
Bilirubinmenge ..... + 260,9%

Nach peroraler Gabe von 2 Dragées Flavugal trat, wie aus der Tabelle deutlich ersichtlich ist, somit eine Steigerung der Saftmenge der Zehnminutenportionen während der Zeit von 90—120 Minuten nach Gabe des Mittels um 53,4% ein gegenüber der Saftmenge der Zehnminutenportionen in den ersten 30 Minuten nach richtiger Sondenlage. (Das Ergebnis ist das Mittel von 11 Versuchen). Die Bilirubinkonzentration wurde um 153,4% und die ausgeschiedene Bilirubinmenge um 260,9% gesteigert. Da in 5 unter 11 Fällen, bei denen anschließend eine $MgSO_4$-Spülung zur Entleerung der Gallenblase erfolgte, die höchste nach Verabreichung des Präparates sich ergebende Bilirubinkonzentration fast der nach $MgSO_4$ entsprach oder dieselbe noch übertraf, kann die hohe Steigerung der

Bilirubinkonzentration und der Bilirubinmenge nur als Steigerung des Gallenflusses vorgebildeter Galle, also von Blasengalle angesehen werden. Die nach Flavugal abfließenden Gallenmengen waren so hochkonzentriert und dabei so reichlich und die ausgeschiedenen Bilirubinmengen so beträchtlich, daß von einer völligen Gallenblasenentleerung gesprochen werden konnte. Da aber in 9 von 11 Fällen eine sehr deutliche Steigerung der Bilirubinkonzentration und vor allem der Bilirubinmengen im Durchschnitt beobachtet wurde, kann die Erscheinung des Abflusses hochkonzentrierter Galle in genügender Menge nicht schlechthin nur auf einen Spontanreflex der Gallenblase bezogen, sondern vielmehr als unter der Wirkung des Arzneimittels erfolgt angesehen werden. Nach eigenen, sehr großen Erfahrungen bei der Duodenalsondierung aus diagnostischen Gründen zeigt sich ein solcher Spontanreflex nur sehr selten, auch bei langer Sondierungsdauer nicht, keinesfalls aber in einem so hohen Verhältnissatz. Es werden hierbei auch nie größere Gallenmengen entleert. Alle diese Erwägungen sprechen wohl mit dafür, daß dem Präparat auch eine größere cholagoge Wirkung zukommt.

IV. Intravenöse Darreichung
(Bestimmung der Trockensubstanz).

Es wurde hierbei in gleicher Weise vorgegangen wie bei der peroralen Verabfolgung, nur, daß statt peroraler Gabe 2 ccm = 1 Ampulle der 5 %igen Lösung des Natriumsalzes des Divanillal-cyclohexanon in alkalischer Lösung intravenös gegeben wurden. Bei exakter Injektionstechnik wurde niemals Auffälliges an der Injektionsstelle beobachtet. Die Injektion wurde stets gut vertragen. Geschmacksveränderungen, Übelkeit, Kollaps-

Intravenöse Darreichung des Präparates
(Bestimmung der Trockensubstanz)

	in 30 Minuten vor Injektion			in 60 Minuten nach Injektion von 2 ccm			Änderung nach Injektion in Prozenten		
	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm	Saft ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm
1.	10,8	8,225	64,5	64,5	9,75	71,25	+ 198,0	+ 18,5	+ 10,5
2.	7,8	19,25	97,0	48,0	25,975	112,0	+ 208,0	+ 35,0	+ 15,5
3.	22,5	23,5	114,0	72,0	30,6	134,0	+ 60,0	+ 30,0	+ 17,5
4.	25,0	3 1,5	136,0	80,0	23,25	123,5	+ 60,0	− 26,0	− 10,0
5.	5,0	2,35	65,6	15,0	4,1	147,6	+ 50,0	+ 74,0	+ 125,0
6.	18,0	17,25	169,2	60,0	13,75	134,4	+ 67,0	− 20,0	− 20,5
7.	8,0	1,125	20,2	60,0	18,0	178,0	+ 275,0	+ 1650,0	+ 780,0
8.	40,0	13,0	101,8	103,5	12,5	121,2	+ 29,4	− 3,8	+ 19,0
9.	10,0	9,75	65,2	50,0	19,0	115,6	+ 150,0	+ 95,0	+ 78,0
10.	8,0	6,125	87,8	24,0	6,5	95,0	+ 50,0	+ 6,1	+ 88,0
11.	4,0	0,8	63.6	24,0	7,5	98,8	+ 200,0	+ 837,0	+ 56,0

Mittelwerte:

	Saftmenge ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Trockensubstanz mg/5 ccm
30 Minuten vor Injektion.....	14,46	12,079	89,54
60 Minuten lang nach Injektion	54,6	15,54	121,03

zustände oder dergleichen traten niemals auf, so daß auch die intravenöse Verabreichung sehr gut verträglich erscheint. Subcutane Injektionen verboten sich wegen der alkalischen Reaktion der Lösung von selbst.

Hieraus berechnete Steigerung nach Injektion des Präparates als Mittel von 11 Versuchen:

Saftmenge ..... um 88,8%
Bilirubinkonzentration ..... „ 28,6%
Trockensubstanz ..... „ 35,0%

Bilirubinmenge vor Darreichung ..... 1,747 mg
„ nach Darreichung ..... 4,24 mg

Steigerung um + 142,1%.

Als Mittel aus 11 Versuchen errechneten sich Steigerungswerte von 88,8% bei der Saftmenge, 28,6% bei der Bilirubinkonzentration, 142,1% bei der Bilirubinmenge und 35,0% bei der Trockensubstanz.

Die Steigerung der Saftmenge bei gleicher oder gesteigerter Bilirubinkonzentration und erhöhtem Trockensubstanzgewicht beweist eindeutig die einwandfrei choleretische Wirkung des Präparates. Nur in 2 Fällen ergab sich eine geringe Erniedrigung der Trockensubstanz und der Bilirubinkonzentration, die wohl durch Beimengung von Magensaft oder Speichel bedingt ist.

Die Erhöhung der in gleichen Zeiten ausgeschiedenen Bilirubinmengen um 142,1% kann bei einer Steigerung der Saftmenge um 88,8% und der Bilirubinkonzentration um 28,6% bei intravenöser Darreichung vorwiegend auf die Vermehrung der Lebergalle, also auf Förderung der Cholerese bezogen werden.

V. Intravenöse Verabfolgung

(Bestimmung der Zehnminutenportionen).

Es wurde in gleicher Weise vorgegangen wie bei der peroralen Darreichung und Bestimmung der Zehnminutenportionen. Es wurden 2 ccm einer 5%igen Lösung des Natriumsalzes intravenös gegeben. Niemals wurde die Injektion schlecht vertragen.

Intravenöse Darreichung des Präparates
(Bestimmung der Zehnminutenportionen)

	I. der ersten 30 Minuten nach richtiger Sondenlage			II. der folgenden 90—120 Minuten nach Darreichung des Präparates			III. Änderung in Prozenten		
	Saft	Bilirubinkonzentration	Bilirubinmenge	Saft	Bilirubinkonzentration	Bilirubinmenge	Saft	Bilirubinkonzentration	Bilirubinmenge
	ccm	mg%	mg	ccm	mg%	mg	ccm	mg%	mg
1.	5,13	8,42	0,432	7,49	11,05	0,827	+ 46	+ 31,1	+ 91,4
2.	2,4	0,779	0,0187	3,98	10,94	0,4357	+ 65,9	+ 130,4	+ 223
3.	5,83	29,62	1,727	8,1	17,56	1,424	+ 38,0	− 40,7	+ 17,6
4.	1,5	8,8	0,132	8,47	21,227	1,798	+ 464,6	+ 141,2	+ 1262
5.	10,93	9,725	1,063	14,17	8,7	1,233	+ 29,6	− 10,5	+ 16,0
6.	0,9	0,744	0,0067	3,54	45,452	1,609	+ 293,3	+ 6009	+ 23915
7.	1,7	0,335	0,0057	2,73	13,018	0,3554	+ 60,6	+ 3785,9	+ 6135
8.	3,6	1,31	0,0472	4,425	12,917	0,5735	+ 22,9	+ 886,1	+ 1112,9
9.	2,13	2,55	0,0544	3,73	1,16	0,0433	+ 75,1	− 54,5	− 20,4
10.	1,16	1,62	0,0189	3,75	2,141	0,0803	+ 232,2	+ 32,1	+ 324,8
11.	1,53	2,06	0,0316	4,3	4,488	0,193	+ 181	+ 117	+ 510,7
12.	5,33	11,305	0,6026	11,2	12,63	1,392	+ 106,7	+ 11,7	+ 130,6
13.	4,6	5,17	0,238	8,77	9,606	0,8425	+ 90,7	+ 85,8	+ 2548
14.	1,0	7,8	0,078	4,2	7,067	0,2968	+ 320	− 9,4	+ 280,5
15.	2,8	1,84	0,0517	6,86	5,787	0,397	+ 145	+ 213,4	+ 667,8
16.	0,37	2,0	0,0074	2,5	8,52	0,213	+ 575,6	+ 277,8	+ 326
17.	0,47	10,3	0,0484	1,975	11,25	0,2212	+ 319,7	+ 8,7	+ 357
18.	3,22	29,0	0,9335	8,36	25,02	2,098	+ 159,6	+ 13,8	+ 124,6
19.	0,66	1,578	0,01042	2,94	25,17	0,7404	+ 345,5	+ 1495,5	+ 7005
20.	0,94	14,78	0,139	4,64	20,47	0,950	+ 393,6	+ 38,5	+ 583,4
21.	9,9	7,59	0,752	12,13	9,71	1,178	+ 22,5	+ 27,9	+ 56,6
22.	1,45	0,910	0,0132	5,033	17,49	0,8806	+ 247	+ 1822	+ 6570
23.	11,83	8,4	0,994	13,83	10,318	1,427	+ 16,9	+ 22,8	+ 43,5
24.	16,4	19,048	3,124	20,0	22,7	4,54	+ 21,9	+ 19,7	+ 45
25.	3,77	5,01	0,189	8,708	12,89	1,123	+ 130,98	+ 157,2	+ 494

Mittelwerte:

	Saftmenge ccm	Bilirubinkonzentration mg%	Bilirubinmenge mg
I. der ersten 3—7 Zehnminutenportionen	3,98	11,14	0,44337
II. der folgenden 7—12 Zehnminutenportionen nach Darreichung	7,033	14,145	0,99487

Hieraus berechnete Steigerung nach intravenöser Darreichung:

Saftmenge ..... + 76,7%
Bilirubinkonzentration ..... + 26,97%
Bilirubinmenge ..... + 124,3%

Bei der beschriebenen Versuchsreihe von 25 Fällen ergab sich eine Steigerung der Saftmenge im Mittel um 76,7 %, der Bilirubinkonzentration um 26,9 %, und der Bilirubinmenge um 124,3 %. Somit erscheint auch in dieser Versuchsreihe eine choleretische Wirkung einwandfrei erwiesen.

Interessant war das zeitliche Verhalten der Steigerung der Saftmenge und der Bilirubinkonzentration. Die Saftvermehrung häufte sich deutlich gegenüber der 20. und 50. Minute und um die 110. Minute. Hingegen war die Steigerung der Bilirubinkonzentration zeitlich nahezu gleichmäßig verteilt. In 10 von 21 Fällen, bei denen anschließend noch eine Gallenblasenentleerung vermittels $MgSO_4$ erfolgte, erreichte oder überstieg die nach Verabreichung des Präparates abfließende Bilirubinkonzentration die Hälfte der nach $MgSO_4$ entleerten Bilirubinkonzentration. Ebenfalls ein Zeichen dafür, daß unter der Einwirkung des Medikamentes auch eine Förderung der Cholokinese erfolgt, erscheint es doch unwahrscheinlich, daß die Lebergalle derartig hohe Bilirubinkonzentrationen aufweisen kann.

Zusammenfassung.

Ein synthetisch hergestellter Stoff — Divanillal-cyclohexanon — zeigte im Tierexperiment gute Verträglichkeit und eine ausgezeichnete Steigerung der Cholerese.

Trotz kurz aufgezeichneter Mängel bietet die Methode der Duodenalsondierung doch die einzige Möglichkeit beim Menschen, die Prüfung der Gallenwirksamkeit eines Mittels durchzuführen.

In Übereinstimmung mit anderen Autoren konnte festgestellt werden, daß der durch Sondenlegung bedingte Reiz auf Cholerese und Cholokinese im Laufe von 30—40 Minuten abklingt, also Steigerung der Saftmengen nach Gabe des zu prüfenden Mittels in bezug zu den Saftmengen der ersten 30 Minuten vor Mittelgabe und nach richtiger Sondenlage sehr wohl auf die Wirksamkeit des Mittels bezogen werden können.

In 13 Fällen wurde 30 Minuten vor und 60 Minuten nach Verabreichung des zu prüfenden Präparates die Saftmenge, die Bilirubinkonzentration, die ausgeschiedene Bilirubinmenge und die Trockensubstanz des Saftes bestimmt.

Es ergaben sich folgende Steigerungen:

Saftmenge	Steigerung um	+ 58,6%
Bilirubinkonzentration	„ „	+ 103,1%
Bilirubinmenge	„ „	+ 222,2%
Trockensubstanz	„ „	+ 30,8%

In 11 Fällen wurden bei peroraler Verabfolgung des Mittels die Zehnminutenportionen bestimmt. Nach Gabe von 2 Dragées Flavugal wurde eine Erhöhung der

Saftmenge	um	+ 53,4%
Bilirubinkonzentration	„	+ 135,3%
Bilirubinmenge	„	+ 260,9%

festgestellt.

Es wurden von Divanillal-cyclohexanon auch 2 ccm einer 5%igen Lösung des Natriumsalzes intravenös gegeben. In einer Versuchsreihe

von 11 Fällen traten nach Injektion bestimmt innerhalb eines Zeitraumes von 60 Minuten folgende Veränderungen ein:

Saftmenge	Steigerung	um	+ 88,8%
Bilirubinkonzentration	„	„	+ 28,6%
Bilirubinmenge	„	„	+ 142,1%
Trockensubstanz	„	„	+ 35,0%

In einer Versuchsreihe von 25 Fällen intravenöser Verabfolgung und Bestimmung der Zehnminutenportion waren folgende Änderungen zu bemerken:

Saftmenge	Steigerung	um	+ 76,7%
Bilirubinkonzentration	„	„	+ 26,97%
Bilirubinmenge	„	„	+ 124,3%

Die oft beobachtete Tatsache, daß die nach Flavugal abfließende Galle so hohe Bilirubinkonzentration aufwies, die fast die nach $MgSO_4$-Entleerung der Gallenblase erzielte Bilirubinkonzentration erreichte, ließ in vielen Fällen eine sehr starke Förderung der Cholokinese annehmen.

Auf Grund unserer insgesamt 60 Untersuchungen kommt also dem Präparat eine starke Gallenwirksamkeit zu, und zwar wird sowohl die Cholerese als auch die Cholokinese gefördert. In allen Fällen war die Verträglichkeit eine gute. In verschiedenen klinischen Fällen wurde das Präparat mit sichtlichem Erfolg therapeutisch angewandt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Reflektorische Kreislaufwirkung des Aconitins*.

Von

H. Geilenkirchen.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Juli 1941.)

Im Anschluß an die Untersuchungen über Kreislaufwirkungen der Mistel[1] und des Veratrins[2], die auf im Vagus afferent geleitete, vom Herzen ausgehende depressorische Kreislaufreflexe (Bezold-Effekt) zurückgeführt werden konnten, lag es nahe, auch das Aconitin zu untersuchen, da es in vieler Hinsicht dem Veratrin ähnlich ist.

Beide sind hochgiftige Alkaloide mit sensiblen Reizwirkungen, wie Wärmegefühl, Brennen und Parästhesien, denen Unempfindlichkeit folgt; beim Aconitin wurden von einzelnen Untersuchern auch veratrinartige Zuckungen des Froschmuskels beobachtet (Boehm[3]). Beide haben starke Wirkungen auf den Kreislauf, besonders auf das Herz, und beide wurden früher bei übermäßig erregter Herztätigkeit, Hypertonie und Fieber[4,5] gegeben, jedoch wegen der starken Nebenwirkungen und der Kollapsgefahr wieder verlassen.

Methodik.

Wie in den früheren Arbeiten aus diesem Institut[1] wurde zum Nachweis der im Vagus geleiteten Reflexe die reizlose und reversible Kälteblockierung der Halsvagi verwendet. Um Störungen durch die Mitausschaltung der Aortennerven auszuschließen, wurden diese in den meisten Versuchen von vornherein durch Ausschälen ihres Ursprungsgebietes an der Aorta und den großen Gefäßen außer Funktion gesetzt; dazu wurde der Thorax eröffnet und die dabei nötig werdende künstliche Atmung verhinderte mittelbare Änderungen des Blutdruckes durch den Einfluß des Aconitins und der Vagusblockierung auf die Atmung.

Alle Versuche wurden an Katzen in Chloralosenarkose (0,05 g/kg Chloralose mit 0,25 g/kg Urethan intramuskulär) ausgeführt. Der arterielle Druck wurde aus der rechten Carotis mit einem Hg-Manometer und gelegentlich mit einem Membranmanometer geschrieben. Der Venendruck wurde in der V. cava superior mit einem Wassermanometer mit mm-Einteilung, an dem die Werte fortlaufend abgelesen wurden, gemessen; zur Registrierung, Luftübertragung zu einem Schlayer-Piston. Aconitin. nitric. cryst. ex Napello, Merck. Injektionskanüle in der linken Jugularis.

---

* D 304.

[1] Henze, C., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 707 (1937); Jarisch, A.: Arch. Kreisl.forsch. **7**, 260 (1940); ebenda **9**, 1 (1941). — [2] Jarisch, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 347, 355 (1939). — [3] Boehm, R.: Heffters Handb. II, 1, S. 291 (1920). — [4] Poulsson: Pharmakologie, Leipzig 1940; auch Mercks Index. — [5] Sollmann, T.: Pharmacology. Philadelphia 1936.

Die Angaben des Schrifttums über die Wirkungen des Aconitins auf Herz und Kreislauf sind voller Widersprüche; das liegt einmal an der Verschiedenheit der geprüften Präparate und ihrer Zersetzlichkeit, dann aber auch an Unterschieden der Versuchsanordnungen, der Versuchstiere und im besonderen der Dosierung, sowie der Geschwindigkeit der Zufuhr. Besonders bunt und wechselvoll ist das Bild der für das Aconitin so charakteristischen Allorhythmien [Scherf (6)].

Darum war von Anfang an mit einem wechselnden Verlauf der Versuche zu rechnen. Dennoch gelang es bei vorsichtiger Dosierung oft zu befriedigenden Ergebnissen zu kommen. Es wurden vom Aconitin zunächst 10—20 γ gegeben und dann wurde zugewartet, alle paar Minuten die Vagusblockierung geprüft und nötigenfalls in Mengen von 10 γ nachinjiziert. Bei diesem Vorgehen können die Rhythmusstörungen gänzlich ausbleiben oder nur vorübergehend erscheinen, so daß sie nicht stören. Bei manchen Tieren traten aber trotz aller Vorsicht frühzeitig wilde Allorhythmien auf und dann waren die Versuche verloren. v. Hueber und Lehr[7] sowie Mladoveanu und Mitarbeiter[8] berichteten, daß Magnesium die Aconitinarrhythmien zum Verschwinden bringt. Ich kann diese Angabe bestätigen und benutzte auch gelegentlich die Injektion von 1 ccm 10%igen Magnesiumsulfats mit Erfolg zur Beseitigung eintretender Rhythmusstörungen. Zu oft dürfen aber die Magnesiuminjektionen nicht wiederholt werden, weil das Magnesium selbst eine Herzwirkung hat (Bradykardie) und die Gefäßreflexe beeinträchtigt.

Der Einfluß der Vagusblockierung auf die Herzfrequenz.

Das Aconitin verlangsamt, ehe die Arrhythmien ausbrechen, den Herzschlag (Cash und Dunstan[9], Matthews[9], Scherf[6], Wolffe und Munch[10], Hueber und Lehr[7]). Diese Bradykardie verschwand nach der Vagotomie in den Versuchen von Cash und Dunstan, sowie von Matthews, jedoch nicht in denen von Boehm und auch Scherf leugnete einen Einfluß der Vagotomie auf die Aconitinbradykardie. In meinen Versuchen, in denen das Fortschreiten der Aconitinwirkung mit Hilfe der reversiblen Vagusblockierung tastend verfolgt wurde, war die Bradykardie durch die Ausschaltung des Vagus im Anfange behebbar, später jedoch nicht mehr; danach hat die Aconitinbradykardie eine vagale und eine langsamer eintretende periphere Komponente, wie dies ja auch bei anderen Stoffen vorkommt. Die Widersprüche in der Literatur sind darauf zurückzuführen, daß die Vagi in verschiedenen Wirkungsphasen durchschnitten wurden und daß wohl auch die Präparate verschieden waren.

Die Bradycardie nach Aconitin ist viel schwächer, als die nach Veratrin oder Mistel und beträgt oft nur wenige Prozent der ursprünglichen Frequenz. Die Phase der Verlangsamung geht später in der Regel unmittelbar in das Stadium der Allorhythmien über, doch sind auch Phasen beschleunigter, aber gleichmäßiger Herztätigkeit gar nicht selten. Mit dem Einsetzen der Bradycardie beginnt der Blutdruck allmählich zu fallen.

[6] Scherf, D.: Z. exper. Med. **65**, 198 (1928). — [7] Hueber, E. F. v., u. D. Lehr: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 25 (1938). — [8] Mladoveanu, C., O. Vasilco u. P. Gheorghiu: Arch. internat. Pharmacodynam. **63**, 494 (1939). — [9] Zit. nach 3, 5, 6. — [10] Wolffe, J. B., u. J. C. Munch: J. Pharmacol. (Am.) **51**, 471 (1934).

Der Einfluß der Vagusblockierung auf den Blutdruck.

Nach der Injektion von 10—20 γ Aconitin steigt der Blutdruck vorübergehend um wenige mm an und nach größeren Mengen kommt es sogar zu raschen und oft beträchtlichen Anstiegen; dies ist offenbar der Ausdruck der von Pilcher und Sollmann[11] festgestellten erregenden Wirkung des Aconitins auf das Vasomotorenzentrum. Nach dem Abklingen der Steigerung beginnt der Druck langsam zu fallen und wenn man jetzt den Vagus kühlt, dann steigt der Druck für die Dauer der Blockierung beträchtlich über den Ausgangswert, was vor der Aconitininjektion nicht der Fall ist — sofern nur die Aorta entnervt wurde. Dieses Verhalten erinnert ganz an das Veratrin[2] und hat seinen Grund offenbar darin, daß die zentral das Vasomotorenzentrum erregende Wirkung des Aconitins durch die

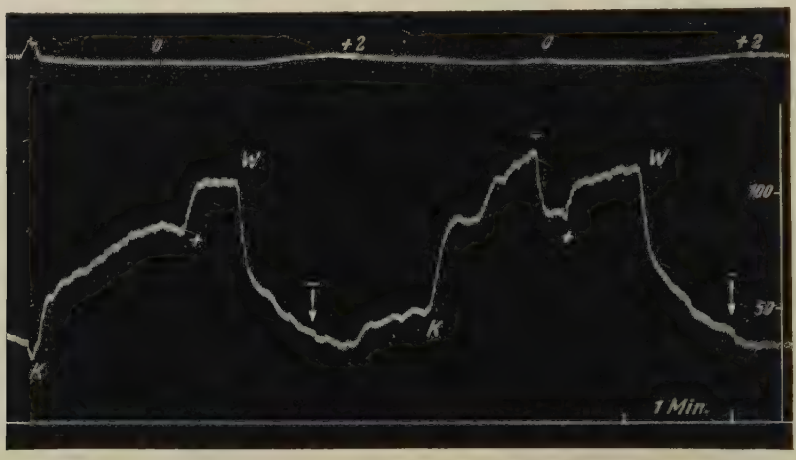


Abb. 1. Katze, 2450 g, in Chloralosenarkose, Aorta entnervt. Erklärung im Text. K = Kühlung, W = Wärmung beider Halsvagi; bei + wurde die linke Carotis abgeklemmt, bei — wieder geöffnet.

im Vagus geleitete reflektorisch-depressorische Wirkung überkompensiert wird; die Vagusblockierung unterbricht dann den Reflex und nun kommt die zentral pressorische Wirkung des Aconitins zum Vorschein.

Wenn man nun 10—20 Minuten zuwartet und allenfalls Aconitin in Einzelgaben von 10 γ nachinjiziert, dann sinkt der Druck immer mehr, was zur Folge hat, daß die Drucksteigerungen bei der Vagusblockierung relativ immer stärker werden. Dieser Zustand hält dann an. In einem Versuch konnte innerhalb von 70 Minuten der Vagus 20mal mit dem gleichen Erfolg ausgeschaltet werden, worauf der Versuch abgebrochen wurde. Es gelingt somit bei Einhaltung gewisser Bedingungen mit Aconitin, einen Zustand hervorzurufen, bei dem der Blutdruck bei eingeschaltetem Vagus niedrig und bei ausgeschaltetem hoch ist, genau so wie dies bei der Mistel beschrieben wurde[1].

[11] Pilcher, J. D., u. T. Sollmann: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 365 (1914).

Die Abb. 1 zeigt einen Ausschnitt aus einem Versuch, in dem zunächst dreimal 10 γ Aconitin in Abständen von 5 Minuten injiziert wurden. Die Abbildung bringt die 7. und 8. Kühlperiode von der 16. bis zur 22. Minute nach der letzten Injektion; hier wurde die Vagusblockierung noch mit der Ausschaltung der Carotissinus durch Abklemmen der linken Carotis, in der rechten war die Blutdruckkanüle eingebunden worden, kombiniert; man sieht nun den Blutdruck bei der Kühlung des Vagus ansteigen und beim Erwärmen wieder abfallen und ferner, daß die Carotisklemmung nur bei eingeschaltetem Vagus wirksam ist. Diese Kurve entspricht völlig der Mistelkurve in der Abb. 7 von Henze und Jarisch[1].

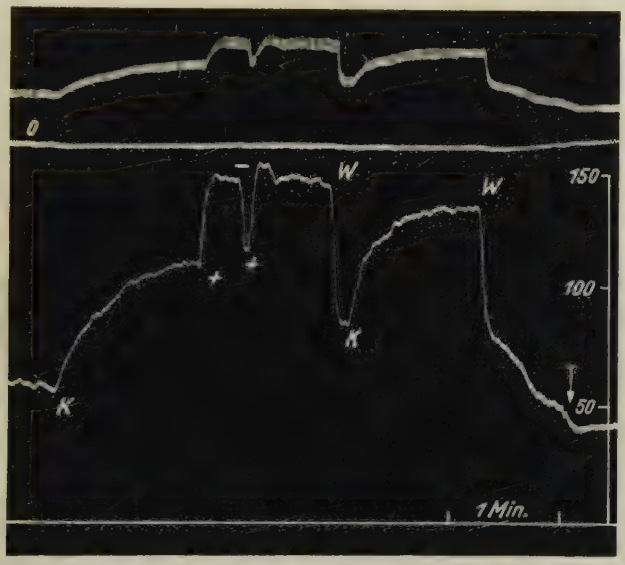


Abb. 2.

Die Abb. 2 zeigt aus dem gleichen Versuch die 12. Blockierung in der 36. Minute; hier wurde der arterielle Druck noch zusätzlich mit dem Membranmanometer geschrieben und auf der Höhe der Drucksteigerung wurde der Carotissinusreflex durch Öffnung der Klemme an der Carotis für 4 Sekunden und der depressorische Vagusreflex durch Erwärmen des Vagus für 15 Sekunden eingeschaltet, was jedesmal einen vorübergehenden Drucksturz zur Folge hatte.

Besonders beachtenswert ist an diesen Kurven: 1. daß die Herztätigkeit vollständig gleichmäßig bleibt (nur im Beginn der ersten Kurve kam es zu einer kurzen Rhythmusstörung, die sich sofort mit einer Zacke im Venendruck zu erkennen gibt), und 2., daß der Venendruck während der Druckstürze unverändert bleibt oder höchstens um 2 mm Wasser ansteigt. Daraus folgt, daß die außerordentlich kräftigen Schwankungen des arteriellen Druckes nicht durch Änderungen der Herzleistung bedingt

sein können, sondern wie in den analogen Veratrin- und Mistelversuchen eine rein vasomotorische Ursache haben müssen.

Einfluß der Äthernarkose. Im Anschluß an die auf der Abb. 2 dargestellte Kühlperiode wurde Äther zugeführt und nun stieg der Blutdruck an, wobei der Blockierungserfolg schwächer wurde und nach dem Abstellen des Äthers kehrte der ursprüngliche Zustand wieder zurück. Das entspricht der bekannten schädigenden Wirkung des Äthers auf depressorische Reflexe im allgemeinen und auf die Mistelwirkung im besonderen[1].

Überblickt man alle Befunde, dann ist nur folgende Deutung der Zusammenhänge möglich: in einer bestimmten Phase der Aconitwirkung ist der Blutdruck niedrig, weil im Vagus depressorische Erregungen dem Vasomotorenzentrum zugeleitet werden; diese offenbar chemisch ausgelöste reflektorische Hemmung des Vasomotorenzentrums ist so kräftig, daß der Blutdruck auf Kollapswerte sinkt und der Carotissinusreflex vollständig ausgeschaltet wird; wenn man aber die Erregungsleitung im Vagus blockiert, dann wird die afferente Bahn des Reflexes unterbrochen und nun steigt der Blutdruck an und der Carotisapparat wird wieder wirksam.

Die vorhin beschriebene vagale Bradykardie kann demnach wie beim Veratrin und der Mistel eine Teilerscheinung des depressorischen Kreislaufreflexes sein, doch gestatten meine Versuche nicht auszuschließen, daß eine unmittelbare Erregung des Vaguszentrums durch das Aconitin vorliegt, wie dies im Schrifttum mehrfach angegeben wurde[3, 12].

Nebenbefunde.

Die Wirkung des Aconitins auf die Atmung.

Es ist eine alte Streitfrage, ob das Aconitin durch Lähmung der Atmung oder des Herzens tötet (vgl. [13]). In zwei Versuchen, in denen die natürliche Atmung des Tieres mitregistriert wurde, trat, kurz nachdem 10 γ Aconitin injiziert worden waren, ein Atemstillstand ein und es mußte künstlich geatmet werden; in Versuchen mit offenem Thorax, bei denen die künstliche Atmung so eingestellt war, daß eine mäßige Spontanatmung im Gang blieb, setzte diese nach der Aconitininjektion aus und begann wieder, sobald der Vagus blockiert wurde, um bei seiner Einschaltung wiederum auszusetzen und so fort (etwas Ähnliches wurde im hiesigen Institut auch beim Veratrin hie und da beobachtet). Zur Erklärung wird man zunächst an die Hemmung der Atmung denken, die jeden depressorischen Reflex und auch den Bezold-Effekt begleitet; da aber die Hemmung doch ungewöhnlich stark ist, muß auch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß in der Lunge atmungshemmende Rezeptoren erregt werden, deren Fasern im Vagus verlaufen und bei seiner Blockierung mit unterbrochen werden.

Der Einfluß des Vagus auf die Aconitinarrhythmien.

Scherf[6] fand, daß in bestimmten Stadien der Aconitinvergiftung durch das Faradisieren des peripheren Vagusstumpfes Allorhythmien ausgelöst werden können. Dem entspricht die folgende eigene Beobachtung: in mehreren Versuchen,

[12] Bush, A. D.: J. Pharmacol. (Am.) **15**, 173 (1920). — [13] Wollenweber: Slg. Vergift.fälle **6**, 95 (1935).

in denen die Arrhythmien trotz vorsichtiger Dosierung des Aconitins eingetreten waren, verschwanden sie, sobald der Vagus gekühlt wurde, um bei seiner Einschaltung sofort wiederzukommen; das bedeutet offenbar, daß der durch Aconitin verstärkte Vagustonus die Reizbildung in den tertiären Zentren genau so auszulösen vermag, wie die künstliche Vagusreizung in Scherfs Versuchen. Da der arterielle Druck beim Einsetzen der Allorhythmien erheblich abnimmt, um bei ihrem Verschwinden wieder anzusteigen, folgt aus diesen Zusammenhängen, daß die Druckschwankungen bei der Vagusblockierung in der Aconitinvergiftung komplexe Ursachen haben können und daß man auf Vasomotorenreflexe nur schließen darf, wenn die Herztätigkeit gleichmäßig bleibt und das Verhalten des Venendruckes cardiale Ursachen auszuschließen gestattet.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche wurden im Hinblick auf gewisse Ähnlichkeiten von Aconitin und Veratrin begonnen, und zwar sollte geprüft werden, ob sich auch beim Aconitin der Bezold-Effekt nachweisen läßt. Dies war nun tatsächlich der Fall; hinsichtlich der Latenzzeit der Erscheinungen und ihrer Dauer ergaben sich aber Unterschiede gegenüber dem Veratrin und Übereinstimmungen mit der Mistel. Während die Wirkung des Veratrins nach der Injektion schlagartig einsetzt und sofort maximal wird, um wenigstens bei kleinen und mittleren Dosen rasch abzuklingen, dauert es beim Aconitin und der Mistel auch nach einmaliger Injektion der wirksamen Mengen stets eine gewisse und beim Aconitin besonders lange Zeit, bis die Erscheinung auftritt; es entwickelt sich ein Zustand mit der ausgesprochenen Neigung fortzuschreiten, so daß die Erscheinungen oft erst in späteren Versuchsstadien am stärksten hervortreten. Die Latenzzeit und das Fortschreiten wurde auch bei anderen Wirkungen des Aconitins [6, 7, 14] beobachtet.

Auch sonst bestehen zwischen Mistel und Aconitin gewisse Ähnlichkeiten; beide rufen a-v-Rhythmen, Bigeminien und Tachycardien hervor und Überleitungsstörungen treten zurück. Die Rhythmusstörungen kommen bei beiden oft so früh, daß sich die Erscheinungen des Bezold-Effektes nicht mehr nachweisen lassen, im Gegensatz zum Veratrin, bei dem sie erst in vorgeschrittenen Vergiftungsstadien auftreten. Ferner rufen beide Stillstände der Vorhöfe hervor, bei denen das Mechanogramm in Ruhe bleibt und das Elektrocardiogramm noch *P*-Zacken schreibt [6, 15].

Zusammenfassung.

Nach vorsichtiger Zufuhr von Aconitin tritt bei der Katze ein Zustand auf, bei dem der Blutdruck niedrig ist, solange der Vagus leitet, und hoch, solange er nicht leitet.

Die Erscheinung ist ähnlich wie beim Veratrin und bei der Mistel auf die Erregung depressorisch wirksamer Nerven im Herzen zu beziehen, deren afferente Bahn im Vagus verläuft.

Hinsichtlich Latenzzeit und Dauer jener Wirkung gleicht das Aconitin mehr der Mistel als dem Veratrin.

[14] Hartung, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **66**, 1 (1911). — [15] Henze, C., u. W. Ludwig: Ebenda **187**, 694 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Reflektorische Kreislaufwirkungen des Histamins.

Von

A. Amann, A. Jarisch und H. Richter.

Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern).

(Eingegangen am 8. Juli 1941.)

Brodie[1] beschrieb nach der Injektion von Serum, und zwar auch von dialysiertem, Blutdrucksenkungen mit Bradykardie, die er, da sie nach der Vagotomie ausblieben, auf das Wirksamwerden depressorischer, im Vagus geleiteter Reflexe bezog; ihren Ausgangspunkt verlegte er in die Lunge. Da beim Veratrin ganz ähnliche Erscheinungen (Bezold-Effekt) zu beobachten sind[2], wiederholten wir die Versuche, und zwar auch mit Serum, das durch Elektrodialyse gereinigt worden war, und erhielten übereinstimmende Ergebnisse. Wir haben aber nicht nachgeprüft, ob der Reflex nach Serum aus der Lunge kommt, wie Brodie angab, und nicht vielleicht aus dem Herzen, wie beim Veratrin anzunehmen ist, sondern gingen gleich zu Versuchen mit Histamin über, da durch die Serumwirkungen Beziehungen zwischen dem Bezold-Effekt und den anaphylaktoiden Erscheinungen nahegelegt waren. Dazu ermutigte uns auch der Umstand, daß es eine Histaminbradykardie[3] gibt, von der schon Dale und Laydlaw[4] zeigten, daß sie nach der Vagotomie ausbleibt und daher immerhin der kardiokardiale Zweig des Bezold-Effektes sein konnte.

Die Methodik war die gleiche wie in den früheren Versuchen dieser Reihe; zur Beurteilung der Frage, ob ein Bezold-Effekt vorliegt, wurden die vor kurzem zusammengestellten Kriterien[5] herangezogen. Alle Versuche wurden an Katzen in Chloralosenarkose ausgeführt.

Die pulsverlangsamende Wirkung des Histamins.

Entsprechend der Angabe von Dale und Laydlaw über die vagale Natur der Histaminbradykardie verschwand die Pulsverlangsamung bei der Vaguskühlung, um beim Erwärmen wiederzukommen. Abb. 1 zeigt einen derartigen Versuch, in dem zur Verstärkung der Vaguswirkung noch Physostigmin gegeben worden war.

[1] Brodie, T. G.: J. Physiol. (Brit.) **26**, 48 (1900). — [2] Jarisch, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 347, 356 (1939). — [3] Vergleiche die Kurven bei Dale, H. H., u. P. Laydlaw: J. Physiol. (Brit.) **41**, 325 (1910); Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin, Berlin 1930, S. 213, 278; Matteef, D. M., u. M. Schneider: Pflügers Arch. **236**, 612 (1935); ferner Hashimoto, H.: J. Pharmacol. (Am.) **25**, 381 (1925); Gollwitzer-Meier, K.: Verh. Dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **9**, 15 (1938). — [4] Dale, H. H., und P. Laydlaw: J. Physiol. (Brit.) **53**, 355 (1919). — [5] Jarisch, A.: Arch. Kreisl.-forsch. **9**, 1 (1941).

Kommt nun diese Vaguswirkung durch direkte Erregung des Zentrums oder reflektorisch über den Carotissinus zustande? Die Frage, ob das Histamin nervöse Zentren unmittelbar zu erregen vermag, wird verschieden beantwortet; Pilcher und Sollmann[6] leugnen es, Weber[7] tritt dafür ein, nach der Injektion von Histamin in den vierten Ventrikel sah Weinberg[8] vegetative Symptome, Bedford[9] jedoch nicht, an der Kröte erhielt Galamini[10] beim örtlichen Aufbringen Reizsymptome von der Medulla. Ob das Histamin auf den Carotissinus bzw. die Chemoreceptoren an der Carotis wirkt, darüber finden sich im Schrifttum keine Angaben.

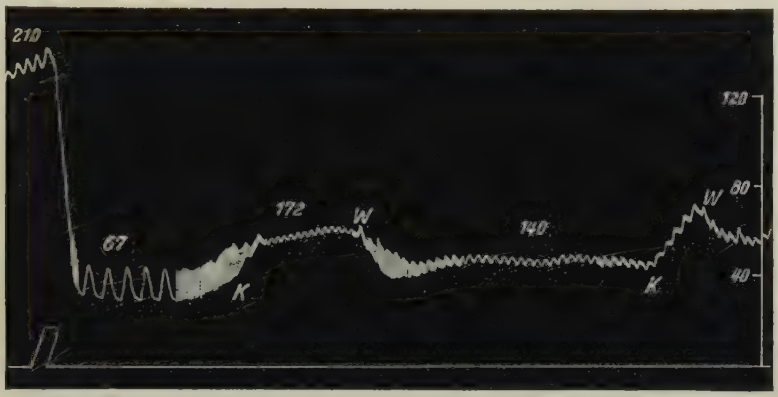


Abb. 1. Katze, 1700 g, in Chloralosenarkose, eviscériert, Aorta entnervt, 3 Minuten vorher 50 γ Physostigmin; beim Zeichen 0,2 mg Histamin, K = Kühlung, W = Wärmung beider Halsvagi. Die Ziffern bedeuten Pulsfrequenzen.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Bradykardie von der Kopfregion ausgelöst wird, injizierten wir das Histamin in die Carotis und in die Vertebralis. Die Injektion in die Carotis erfolgte durch die A. thyreoidea ins strömende Blut, wobei die Carotis externa in mehreren Versuchen abgebunden worden war, damit das Histamin nicht zu schnell auf Abwege gerät; in die Vertebralis wurde von der A. brachialis her injiziert[11]. Wir begannen mit unwirksamen Histaminmengen und gaben zur Verstärkung der Vaguswirkung mitunter auch Physostigmin. Es zeigte sich, daß die Bradykardie bei der Injektion in die Kopfgefäße weder bei kleineren Mengen, noch rascher, noch stärker auftrat, als wenn das Histamin in die Halsvene eingespritzt wurde. Das spricht gegen eine Auslösung der Bradykardie vom Zentrum oder vom Carotissinus aus.

---

[6] Pilcher, J. D., u. T. Sollmann: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 385 (1914). — [7] Weber, E.: Arch. Physiol. **1914**, S. 63. — [8] Weinberg, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 235 (1937). — [9] Bedford, T. H. B.: J. Physiol. (Brit.) **93**, 423 (1930). — [10] Galamini, A.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **11**, 359 (1936). — [11] Vgl. Richter, H., u. H. Thoma: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 622 (1939).

Die reflektorische Komponente bei der Blutdruckwirkung des Histamins.

Auf depressorische Reflexe im Vagus darf geschlossen werden, wenn bei der Vagusblockierung Drucksteigerungen auftreten und auszuschließen ist, daß sie durch die Mitblockierung der Aortennerven oder durch eine Änderung in der Förderleistung des Herzens zustande kommen[5].

Bei der Mistel, dem Veratrin und dem Aconitin[12] treten bei der Vagusblockierung außerordentlich kräftige Drucksteigerungen auf, die oft

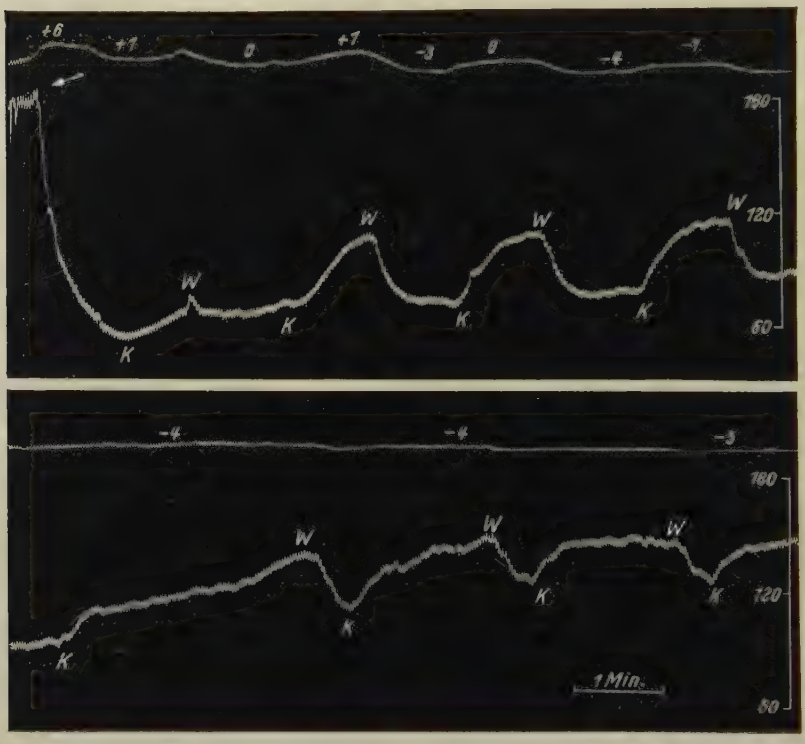


Abb. 2. Katze, 3500 g, in Chloralosenarkose, Aorta entnervt; oben Druck in der V. cava sup. (die Ziffern bedeuten Abweichungen vom Ausgangswerte in mm H_2O), unten Druck in der rechten Carotis; 3 Minuten vorher viermal 10 γ Atropin. Einmalige Injektion von 0,7 mg Histamin; K = Kühlung, W = Wärmung beider Halsvagi. Die untere Kurve schließt unmittelbar an die obere an.

mehrere 100% betragen. Beim Histamin darf man wegen seiner starken und in mehrfacher Weise peripher drucksenkenden Wirkung so starke Ausschläge naturgemäß nicht erwarten, auch erlöschen im tiefen Histaminschock nach Grimson und Shen[13] die Vasomotorenreaktionen überhaupt. Bei mittleren Wirkungsstärken war aber doch denkbar, daß sich die Reflexe durchsetzen, und in der Tat rief da die Vagusblockierung deutliche Drucksteigerungen hervor (Abb. 1 und 2).

[12] Geilenkirchen, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 152 (1941). — [13] Grimson, K. G., u. T. C. R. Shen: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**,474 (1939).

Die Abb. 2 stammt von einem Versuch, in dem zunächst 4mal 10 γ Atropin gegeben wurde, um die Bradykardie nicht aufkommen zu lassen, und dann wurden 0,7 mg Histamin injiziert, und in der Erholungsphase wurden die Vagi gekühlt und wieder erwärmt, was jedesmal einen Druckanstieg zur Folge hatte. Dann wurden die Vagi dauernd gekühlt, und nachdem der Druck fast zum Ausgangswert angestiegen war, wurden die Vagi mehrmals für 25 Sekunden erwärmt, was jedesmal einen Drucksturz auslöste. Dieser Versuch beweist das Vorliegen eines depressorischen Reflexes im Vagus, denn erstens war die Aorta vorher entnervt worden, weshalb die Veränderungen des Blutdruckes nicht durch Mitausschaltung der Aortennerven bedingt sein konnten (vor der Histamininjektion war die Vagusblockierung auch ohne Einfluß auf den Blutdruck geblieben), und

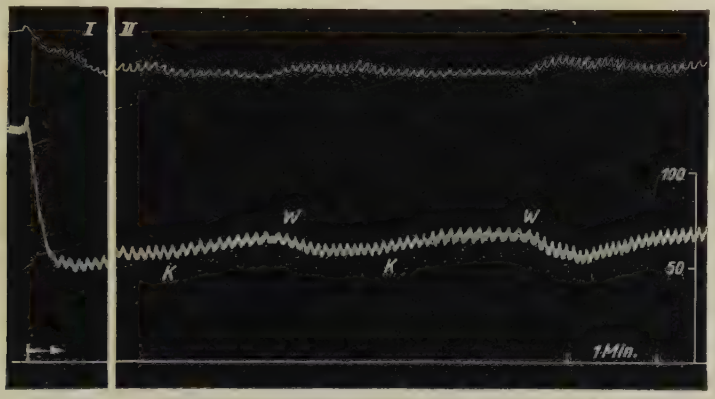


Abb. 3. Katze, 2500 g, in Chloralosenarkose, Aorta entnervt, Vagi über dem Zwerchfell durchschnitten. Oben Milzvolumen, unten Druck in der rechten Carotis. I. Beginn einer Dauerinfusion von 10,5 γ/kg/Min. Histamin; II. Zwei Minuten später. K = Kühlung, W = Wärmung beider Halsvagi.

zweitens waren nicht Änderungen der Herzleistung an den Druckschwankungen schuld, denn der Venendruck lief dem arteriellen Druck bei den Blockierungen parallel.

Übereinstimmende Ergebnisse erhielten wir in Versuchen, in denen wir das Histamin in Mengen von 7, 10, 25, 26, 45, 64, 75 und 132 γ/kg/Min. dauernd einlaufen ließen. — Das Ausmaß der Blockierungsfolgen war allerdings sehr wechselnd, doch entspricht dies der Tatsache, daß der Bezold-Effekt bei verschiedenen Tieren überhaupt verschieden stark auslösbar ist und daß ja auch die Empfindlichkeit gegen Histamin stark schwankt. Der stärkste Anstieg, den wir bei der Vagusblockierung beobachteten, war 40—84—40 mm Hg. Zu bemerken ist, daß für das Auftreten der Blockierungsfolgen eine gewisse Stärke der Histaminwirkung erforderlich ist, denn bei ganz leichten Graden treten sie nicht auf und im tiefen Schock natürlich auch nicht; ferner ist zu berichten, daß die Blockierungsfolgen nach den Histamineinwirkungen etwa 10 Minuten lang zu beobachten sind.

Die Abb. 3 zeigt einen Ausschnitt aus einem Versuch, in dem das Volumen der Milz registriert wurde, nachdem die Vagi über dem Zwerchfell durchschnitten worden waren; die Milz schreibt bei der Blockierung des Halsvagus gegenläufige Volumenschwankungen. Absolut betragen diese Volumenveränderungen nur knapp 0,2 ccm, aber es ist doch erstaunlich, daß die Volumenreaktionen bei einer so starken Histaminwirkung überhaupt noch zum Vorschein kommen.

Die Versuche lehren somit, daß die Blockierung der Halsvagi bei Histaminwirkungen bestimmter Stärke vasomotorische Erscheinungen mit sich bringt, die sich nur verstehen lassen, wenn man annimmt, daß hierbei depressorische, im Vagus afferent geleitete Erregungen unterbrochen werden. Wo kommen sie her?

Da die Erscheinung auch nach Entnervung der Aorta oder wenn die Vagi über dem Zwerchfell durchschnitten wurden oder auch an eviscerierten Tieren auftritt, kommen nur Herz oder Lunge als reflexogene Zone in Betracht. Da war zunächst einmal denkbar, daß in der Lunge befindliche Chemoreceptoren durch das Histamin erregt wurden, doch ließ sich diese Möglichkeit durch Versuche ausschließen, in denen das Histamin nach dem Vorgehen von Amann und Richter[14] in die aus dem Kreislauf ausgeschaltete Lungenarterie injiziert wurde. Dann war denkbar, daß die nach Histamin einsetzende Drucksteigerung in der Pulmonalis[15] im Wege der dort befindlichen Pressoreceptoren den Reflex gewissermaßen als „Lungenentlastungsreflex" im Sinne von Schwiegk auslösen; auch diese Möglichkeit kann ausgeschlossen werden, erstens, weil die Drucksteigerung in der Pulmonalis nach Histamin nur ganz kurze Zeit dauert, und zweitens, weil in Versuchen, in denen wir den Pulmonaldruck nach einem bei den entsprechenden Mistelversuchen beschriebenen Verfahren[16] absenkten, der Blockierungserfolg unverändert blieb.

Da schließlich die Erscheinungen nach der Injektion eines Anaestheticums in den Herzbeutel weg waren, kann nur das Herz der Ausgangspunkt der im Vagus aufgespürten afferenten Reflexbahn sein. Damit stellen sich aber die beim Histamin beobachteten vasomotorischen Erscheinungen in eine Reihe mit den bei der Mistel, dem Veratrin und dem Aconitin beschriebenen und sind also ein — Bezold-Effekt.

Besprechung der Ergebnisse.

Im ersten Abschnitt konnten keine Anhaltspunkte dafür gefunden werden, daß die Histaminbradykardie durch unmittelbare Erregung des Vaguszentrums oder über den Carotissinus zustande käme. Die Versuche

---

[14] Amann, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 274 (1940). — [15] Dale, H. H., u. P. Laydlaw: J. Physiol. (Brit.) **41**, 318 (1910); Führer, H., u. E. H. Starling: Ebenda **47**, 286 (1913); Gaddum, J. H., u. P. Holtz: Ebenda **77**, 319 (1933); Cloetta, M., u. E. Anderes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **76**, 125 (1914). — [16] Amann, A., A. Jarisch u. H. Richter: Ebenda **197**, 590 (1941).

sprachen sogar dagegen. Da im zweiten Teil bei der Histaminwirkung mit Sicherheit vom Herzen ausgehende depressorische Gefäßreflexe nachgewiesen wurden, wird die Histaminbradykardie wohl nichts anderes sein als der kardiokardiale Zweig des Bezold-Effektes; jede andere Deutung wäre gezwungen. Damit stimmt durchaus überein, daß, wie die Abb. 1 zeigt, die Bradykardie rascher zurückgeht, als der Blutdruck ansteigt, denn das gleiche wurde bei der Mistel und beim Veratrin beobachtet und entspricht der seit langem bekannten Tatsache, daß bei den depressorischen Reflexen die Pulsverlangsamung flüchtiger ist als die Drucksenkung, die unter Umständen überhaupt nicht zu „ermüden" scheint. Frau Gollwitzer-Meier[3] fand, daß die Histaminbradykardie auch eine periphere Komponente besitzt; dem entspricht, daß in unserer Abb. 1 die Frequenz

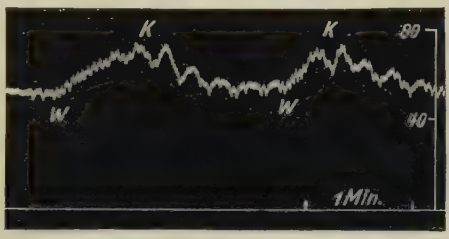


Abb. 4. Katze 2500 g in Chloralosenarkose, Aorta entnervt. Vagopressorreflex. Erklärung im Text.

während der Vagusblockierung trotz der starken Zunahme den Ausgangswert doch nicht erreichte.

Unsere Befunde sind gerade entgegengesetzt der Angabe von McDowall[17], daß der Druck weiter fällt, wenn man während der Histaminwirkung die Vagi durchschneidet. Aber vielleicht ist der Widerspruch doch nicht so arg; in den späteren Stadien der Histaminwirkung konnten wir nämlich die von McDowall beschriebene Erscheinung ebenfalls beobachten. Abb. 4 bringt ein Beispiel, in dem 17 Minuten nach der Abstellung einer Histamindauerinfusion von 75 γ/kg/Min. die Vagusblockierung umgekehrt wie während oder kurz nach der Infusion wirkte. McDowall sagt nichts über den Zeitpunkt der Durchschneidung, auf diesen kommt es aber offenbar an, wie die Versuche mit der reversiblen Vagusblockierung lehren, die gestatten, den ganzen Verlauf der Histaminwirkung abzutasten.

Hier sei eingefügt, daß die Frage des Vagopressorreflexes von McDowall noch gänzlich ungeklärt ist; daß er auch bei hohem Venendruck vorkommt, wurde bereits vermerkt[2] und neuerdings sahen wir ihn auch bei hohem arteriellen Drucke; wir halten es jetzt für möglich, daß der Vagopressorreflex ein echtes pressorisches Gegenstück zum Bezold-Effekt ist.

Es bleibt noch zu erörtern, welche Rolle die Vasomotorenreflexe bei der Kreislaufwirkung des Histamins spielen. Dies erledigt sich am ein-

[17] McDowall, R. J. S.: J. Physiol. (Brit.) **59**, 41 (1924); McDowall, R. J. S., u. B. L. Worsnop: Ebenda **59**, 36 P (1924).

fachsten, wenn man sagt, daß in der Wirkung mittlerer Histaminmengen „ein Bezold-Effekt drin steckt". Die initiale Bradykardie ist seine kardiokardiale Komponente, und die kardiovasculäre senkt den Druck noch weiter; wie weit, das erkennt man, wenn man in der Abb. 2 alle Druckwerte während der Blockierungen mit einer Linie verbindet, denn diese entspricht dann der Histaminwirkung ohne Bezold-Effekt.

Schließlich sind unsere Befunde noch für die Frage nach dem Auslösungsmechanismus des Bezold-Effektes von Interesse. Das Histamin erregt sensible Nerven[18]; die Mistel, das Veratrin und das Aconitin sind Herzgifte, und da bei Gewebsschädigungen Histamin frei wird, könnte es die Rolle eines neurochemischen Übertragungsstoffes spielen. Wir beobachteten aber die Reflexe nur nach größeren Histaminmengen, und da diese ebenfalls das Herz schädigen und bei jeder Gewebsschädigung auch Kaliumionen frei werden, müssen auch diese in Betracht gezogen werden, wenn man der Frage nachgeht, wie denn der Bezold-Effekt letzten Endes zustande kommt[19].

Zusammenfassung.

Die Histaminbradykardie ist zum größten Teil vagal bedingt. Bei der Injektion von Histamin in die Carotis oder in die Vertebralarterie tritt die Bradykardie weder früher noch stärker auf als bei der Injektion in die Jugularis. Das spricht dagegen, daß die Bradykardie durch unmittelbare Erregung des Vaguszentrums oder über die Chemoreceptoren an der Carotis zustande kommt.

Während der Wirkung mittlerer Histaminmengen löst die Vagusblockierung reversible vasomotorische Reaktionen aus, die sich bei der näheren Untersuchung als Bezold-Effekt erweisen; danach ist die altbekannte Histaminbradykardie wohl nichts anderes als ein kardiokardialer Hemmungsreflex.

Das Histamin ist eine körpereigene Detektorsubstanz für den Bezold-Effekt. Ob es der physiologische Übertragungsstoff bei der Erregung der kardialen Receptoren ist, bleibt aber noch unentschieden.

---

[18] Heubner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925); Rosenthal, S. R., u. D. Minard: J. exper. Med. (Am.) **70**, 415 (1939). — [19] Jarisch, A.: Klin. Wschr. **1941**, im Druck.

Aus dem Institut für Path.-Anatomie, Pathohistologie und Gerichtliche Medizin. [Direktor: Dr. J. v. Baló, o. ö. Prof. der kgl. ung. N. v. Horthy-Universität in Szeged (Ungarn).]

Die Steigerung der Nebennierenrindenfunktion*.

Von

Dozent Dr. **I. Gy. Fazekas.**

(Eingegangen am 14. Juli 1941.)

Auf Grund der im einschlägigen Schrifttum niedergelegten Angaben sowie meiner eigenen Versuchsergebnisse konnte ich in einer meiner früheren Abhandlungen die Schlußfolgerung aussprechen, daß die auf verschiedene Weise zustande kommenden Hypertrophien der Nebennierenrinde auf einer gemeinsamen Ursache beruhen: es ist dies die Verschiebung des Chemismus des Organismus nach der sauren Seite, also die Acidose bzw. die mit dieser stets parallel einhergehenden Lipämie und Hypercholesterinämie. Diese Feststellung bezieht sich demnach nicht nur auf die Nebennierenrindenhypertrophien, die durch die Einwirkung der Wirkungsstoffe einzelner endokriner Drüsen entstehen oder solche, die durch exogene und endogene Gifte, Zerfallsprodukte, Bakterientoxine oder durch andere Stoffe — z. B. Fett, Cholesterin usw. — hervorgerufen werden, sondern auch auf jene, die durch Donaldson und Meeser, später durch Beznák und Sarkady an Ratten durch gesteigerte und dauernde Muskelarbeit (Laufenlassen) erzeugt werden konnten. Aus den Versuchsergebnissen von Pechstein u. a. geht nämlich hervor, daß die p_H des Muskels bei vollständiger Ruhe 7,43 beträgt — also auf der alkalischen Seite liegt —, während sich die chemische Reaktion des arbeitenden Muskels immer mehr nach der sauren Seite verschiebt, so daß die p_H desselben in der Ermüdung durchschnittlich 6,84 beträgt. Dies findet seine Erklärung in der Tatsache, daß im arbeitenden Muskel infolge des Glykogenabbaues Milchsäure (Fletcher und Hopkins) sowie andere Stoffe saurer Natur, wie Phosphorsäure, Essigsäure usw., in verhältnismäßig großen Mengen gebildet werden; sobald diese ins Blut gelangen, bewirken sie die Verschiebung des Chemismus nach der sauren Seite. Nach Hill und seinen Mitarbeitern kann der Milchsäuregehalt des Blutes 10—12 Minuten nach anstrengender Muskelarbeit vom Ausgangswert — 8—15 mg% — auf 100 mg% und noch mehr ansteigen. Zahlreiche Berichte des Schrifttums besagen, daß die Zunahme der Blutmilchsäure immer mit der Abnahme der Alkalireserve einhergehe, daß also eine Acidose entstehe (Gaessler).

* Die Arbeiten zu dieser Mitteilung wurden mit Hilfe der Stiftung des Fürsten Paul v. Esterházy bewerkstelligt.

Frau Beznák, Hajdu und Korényi suchten die Ursache der Nebennierenhypertrophie festzustellen, die durch gesteigerte körperliche Arbeit zustande kommt. Sie verabreichten den Versuchstieren (Ratten) Stoffe, mit deren Vermehrung im Blute dieser Tiere infolge der erhöhten Arbeitsleistung an sich zu rechnen war. Nach wiederholten Injektionen von Essigsäure, Bernsteinsäure, Citronensäure, HCl, KCl, Carbamid und Kreatinin entstand bei diesen Versuchen stets die Nebennierenhypertrophie; diese Stoffe rufen bekanntlich Acidose hervor. Frau Beznák und ihre Mitarbeiter gelangten zu dem Schluß, „daß das Ansteigen der p_H die Nebenniere zu erhöhter Funktion mitunter sogar zur Hypertrophie veranlassen könne". Durch die Ergebnisse dieser Forscher erfährt meine (7) früher veröffentlichte Abhandlung über die Hypertrophie der Nebenniere bzw. die darin niedergelegte Feststellung über die gemeinsame Ursache derselben eine neuerliche Bekräftigung. Wie eingangs erwähnt, gelangte ich zu dem Schluß, daß die auf die verschiedenste Weise entstandenen Nebennierenhypertrophien auf einer gemeinsamen Ursache, auf der Acidose bzw. auf der mit dieser stets einhergehenden Lipämie und Hypercholesterinämie beruhen. Nach Parnas, ferner Embden, wird bei der Muskelkontraktion aus der Adenylsäure (einem Nucleotid) Ammoniak gebildet; Kalk und Bonis fanden, daß der Ammoniakgehalt des menschlichen Blutes nach Muskelarbeit erheblich zunehme. In einer meiner früheren Mitteilungen (8) konnte ich zeigen, daß sich auf die Einwirkung von Ammoniak - trotz der alkalischen Natur desselben — Acidose entwickle. Man darf demnach annehmen, daß durch die bei der Muskelarbeit gesteigerte Ammoniakbildung zusammen mit den entstehenden organischen Säuren die Entwicklung der Acidose gefördert werde und daß dies letzten Endes die Hypertrophie der Nebenniere zur Folge habe.

Bei der histologischen Untersuchung der durch verschiedene Ursachen hypertrophisch gewordenen Nebennieren gelangten mehrere Forscher zu dem Ergebnis, daß in erster Linie die Vermehrung der Lipoide in den Zellen der Rindensubstanz für die Hypertrophie der Rinde verantwortlich zu machen sei; dazu gesellt sich nicht selten auch noch die Vermehrung der Rindenzellen auf dem Wege der Zellteilung. Bei der durch Ammoniak verursachten Nebennierenhypertrophie konnte auch ich die Vermehrung bzw. Teilung der Rindenzellen sowie die gewaltige Erhöhung des Lipoidgehalts in der Rindensubstanz nachweisen; die chemische Untersuchung ergab, daß in diesen hypertrophischen Nebennieren der Gehalt an Neutralfett 4,5mal, jener an Gesamtcholesterin 6,5mal mehr betrage als unter normalen Verhältnissen. Aus den Untersuchungen von Reichstein und seinen Mitarbeitern (1936) sowie anderer Verfasser geht hervor, daß der Wirkungsstoff der Nebennierenrinde eine Sterinart (Corticosteron) darstelle. Auf Grund der wesentlichen Zunahme des Cholesterins sowie der Vermehrung der Rindenzellen in den durch die Ammoniakwirkung hypertrophisch gewordenen Nebennieren durfte man demnach

auf die gesteigerte Funktion dieses Organs schließen und die Blutdruckerhöhung sowie die Fettablagerung bei den Versuchstieren auf die Rindenhyperfunktion zurückführen. In Anbetracht der theoretischen und praktischen Tragweite dieser Auffassung sahen wir uns veranlaßt, die gesteigerte Funktion der experimentell hypertrophisch gemachten Nebennierenrinde mit Hilfe einwandfreier Versuche zu beweisen. Zu diesem Zweck bereiteten wir einerseits aus den Nebennieren gesunder, unbehandelter Kaninchen, andererseits aus den hypertrophischen Nebennieren der mit Ammoniak behandelten Kaninchen je einen Rindenextrakt und verglichen die Wirksamkeit der beiden Extrakte miteinander.

Zunächst gelangten die Nebennieren von 100 gesunden, unbehandelten Kaninchen verschiedenen Geschlechts mit einem Körpergewicht von 2500—3500 g zur Verarbeitung. Der wässerige Rindenextrakt wurde mit Hilfe des kombinierten Verfahrens (Alkohol—Benzol—Aceton—Petroläther und Permutit) nach Swingle und Pfiffner hergestellt. Das Gewicht beider Nebennieren eines unbehandelten, gesunden Kaninchens beträgt 20—60 cg, im Durchschnitt 42,34 cg; das Gewicht sämtlicher Nebennieren der 100 unbehandelten Kaninchen betrug demnach 42,34 g. Aus dieser Masse wurden 28,23 ccm einer wässerigen Stammlösung angefertigt, die in 1 ccm soviel Rinden-Wirkungsstoff enthält, wie 1,5 g frischer Nebenniere entspräche.

Zubereitung des Rindenextrakts nach dem kombinierten Verfahren von Swingle und Pfiffner: Die frische Nebenniere wird mit der Schere zerstückelt, in der Reibschale tüchtig zerrieben, dann in 200 ccm 96%igen Alkohol gebracht und schließlich 7 Tage bei Zimmertemperatur gehalten; diese Mischung ist mehrmals täglich tüchtig zu schütteln. Nach diesen 7 Tagen wird die alkoholische Lösung abgegossen und beiseite gestellt, zu dem Rückstand fügt man 200 ccm 80%igen Alkohol hinzu und läßt wieder 7 Tage lang extrahieren. Nun filtriert man durch den Büchner-Trichter in eine Vakuumflasche; der Rest der Drüsenmasse wird nicht weiter verwendet. Die beiden alkoholischen Extrakte werden vereinigt, auf dem 25—30° C-Wasserbad bis zu etwa 30 ccm eingeengt, im Scheidetrichter mit demselben Volumen Benzol fünfmal geschüttelt und wieder extrahiert. Die wässerige Lösung enthält keine nennenswerten Mengen Wirkungsstoff und wird daher nicht weiter verwendet; aus der Benzollösung wird das Benzol im Vakuum zum Verdunsten gebracht und der Rückstand zweimal mit je 50 ccm Aceton geschüttelt und extrahiert. Der sich nun ergebende Rückstand — Phosphorlipoide — wird nicht weiter verwendet, aus der Acetonlösung wird das Aceton im Vakuum entfernt. Den Rest schüttelt man zweimal mit der Mischung von je 50 ccm Petroläther und 70%igem Alkohol; die Petrolätherfraktion bleibt unbenutzt, die mit Hilfe des 70%igen Alkohols gewonnene Fraktion wird durch Permutit filtriert — um die Adrenalinreste zu entfernen. Das Filtrat wird unter Hinzufügung der entsprechenden Wassermenge im Vakuum auf den gewünschten Rauminhalt (28,2 ccm) eingeengt und filtriert. Das nun erhaltene Filtrat enthält den wirksamen Rindenextrakt, mit dem wir die vergleichenden Untersuchungen durchführten. Zwecks Konservierung wird der Extrakt mit 0,1%iger Benzoesäure versetzt und ständig im Eisschrank gehalten.

Zur Bestimmung des Gehaltes an Wirkungsstoff des auf die beschriebene Weise gewonnenen normalen Kaninchen-Nebennierenrindenextraktes be-

dienten wir uns des biologischen Verfahrens von Bomskov und Bahnsen. Der Grad der Wirksamkeit des Extraktes wird berechnet, indem man bestimmt, wie lange die Lebensdauer der nebennierenlosen infantilen Mäuse durch den Extrakt verlängert werde.

Zur Ausführung der diesbezüglichen Versuche verwendeten wir 25 infantile 22—25 Tage alte weiße Mäuse mit einem Körpergewicht von 9 9,5 g und exstirpierten beide Nebennieren der Tiere in Äthernarkose. Ausführung der Operation: Etwa in der Mitte des Rückens werden die Tiere geschoren und die Haut mit Alkohol gereinigt. Schnittführung in der Mittellinie, 2 cm lang, das kraniale Ende des Schnittes liegt 0,5 cm oberhalb der letzten Rippe. Auf der Seite der jeweiligen Exstirpation wird der entsprechende Rand des Hautschnittes beiseite gezogen. Bei der Exstirpation der linken Nebenniere wird unterhalb der letzten Rippe, am Rande der longitudinalen Rückenmuskulatur, ein parallel zu dieser verlaufender etwa 6 mm langer Schnitt mit der Schere durch die dünne durchscheinende Muskulatur geführt. Durch die so entstandene Öffnung kann man den oberen Nierenpol leicht freilegen und die deutlich sichtbare Nebenniere mit der Schalenpinzette mit einem Griff entfernen. Bei der Exstirpation der rechten Nebenniere wird 2—3 mm unterhalb der letzten Rippe die dünne, durchscheinende Muskulatur mit Hilfe eines 6 mm langen Querschnittes durchtrennt, der parallel zur letzten Rippe verläuft. Durch die so entstandene Öffnung wird die rechte Niere hervorgeholt und die hier etwas näher zum Nierenhilus liegende Nebenniere in ähnlicher Weise wie auf der linken Seite mit Hilfe der Schalenpinzette entfernt. Nennenswerte Blutungen waren weder während noch nach diesem Eingriff zu beobachten. Nach der Entfernung der Nebennieren bringt man die Nieren wieder vorsichtig in ihre natürliche Lage und verschließt die Hautwunde durch eine fortlaufende Naht. Wenige Minuten nach der Operation kamen die Tierchen wieder zu sich, begannen alsbald zu kriechen und verhielten sich ruhig; 15—30 Minuten später nahmen sie wieder Nahrung zu sich. Da der Eingriff unter aseptischen Kautelen ausgeführt wurde, waren Wundinfektionen niemals wahrzunehmen. Die Versuche konnten stets am Tage nach der Operation fortgesetzt werden.

Wir teilten die Mäuse in 5 Gruppen zu je 5 Tieren. Die Tiere der einen Gruppe blieben vollkommen unbehandelt und dienten als Kontrolle, während die Tiere der übrigen 4 Gruppen mit dem von uns hergestellten normalen Nebennierenrindenextrakt behandelt wurden, und zwar gelangte der Extrakt je Gruppe in verschiedenen Verdünnungen zur Verwendung.

Im Sinne der Vorschrift von Bomskov und Bahnsen entsprach der Unterschied in der Verdünnung des Extrakts zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Gruppen dem Verhältnis von 2 : 3. Zur Herstellung der Verdünnungen wurden 0,30, 0,45 und 0,67 ccm des Originalextrakts (Stammlösung) mit physiologischer Kochsalzlösung auf jeweils 1 ccm ergänzt. Von den Tieren der 4 behandelten Gruppen erhielten demnach die Tiere der einen Gruppe die unverdünnte Stammlösung, die Tiere der anderen Gruppen hingegen die verdünnten Lösungen in dem oben angegebenen Mengenverhältnis. Vom Tage nach der Operation angefangen erhielt somit jedes Tier 7 Tage hindurch täglich zweimal, stets zum selben Zeitpunkt, jeweils 0,125 ccm des Extraktstoffes in der entsprechenden Verdünnung subcutan. Die Lebensdauer der Mitglieder der einzelnen Gruppen sowie die Zahl der verendeten und der am Leben gebliebenen Mäuse erhellt aus Tabelle 1.

Tabelle 1.

Lebensdauer nach der Nebennierenexstirpation	Kontrollmäuse	Mäuse behandelt mit dem Rindenextrakt d. Normal-Kaninchen			
		Konzentration der Extrakte			
		0,30	0,45	0,67	1
1 Tag	—	—	—	—	—
2 Tage	—	1	1	—	—
3 „	2	2	—	—	—
4 „	—	—	—	—	—
5 „	2	1	—	1	—
6 „	1	—	—	—	—
7 „	—	—	1	—	—
Zugrunde gegangen	5 = 100%	4 = 80%	2 = 40%	1 = 20%	0
Am Leben geblieben	0	1 = 20%	3 = 60%	4 = 80%	5 = 100%

Aus der Tabelle geht hervor, daß unter den nebennierenlosen unbehandelten Tieren (Kontrollen) 2 am 3., 2 am 5. und 1 am 6. Tage verendeten; also in 6 Tagen alle 5 Mäuse (= 100%).

Bei den mit verschiedenen Verdünnungen des Extraktes behandelten Tieren führten die Versuche zu folgenden Ergebnissen:

Verdünnung 0,30 (in 1 ccm 0,30 ccm Stammlösung): 1 Maus verendete am 2., 2 am 3., und 1 am 5. Tag (= 80%); ein Tier war am Leben geblieben (= 20%).

Verdünnung 0,45: 1 Maus verendete am 2. und 1 am 7. Tag (= 40%); hier waren demnach 3 (= 60%) am Leben geblieben.

Verdünnung 0,67: unter den Tieren dieser Gruppe verendete bloß 1 Maus (= 20%). und zwar am 6. Tag, während 4 (= 80%) am Leben blieben.

Schließlich blieben sämtliche mit der unverdünnten Stammlösung behandelten Tiere (= 100%) am Leben.

Nach Bomskov und Bahnsen wird die Wirkungskraft eines Nebennierenrindenextrakts in „cortisodynamischen Mäuseeinheiten" (= C.M.E.) ausgedrückt. Unter einer C.M.E. hat man jene Tagesdosis eines Extrakts zu verstehen, mit deren Hilfe man zumindest 80% der nebennierenlosen, 9—11 g schweren, infantilen Mäuse bei 7 Tage hindurch täglich verabreichter Injektion bis zum 8. Tag nach der Operation am Leben erhalten kann. Dieselben Verfasser erwähnen, daß man eine bedeutend stärkere Wirkung erzielen kann, wenn man den Extrakt nicht in einmaligen Tagesdosen verabreicht, sondern dieselbe Menge auf zwei gleiche Dosen (vormittag und nachmittag je eine Injektion) verteilt; dadurch sollen die physiologischen Verhältnisse leichter nachgeahmt werden können. Bei dieser fraktionierten Behandlungsweise soll man mit einem Drittel der bei einmaligen Tagesinjektionen notwendigen Extraktmenge dasselbe Ergebnis erzielen können. Der Wert der C.M.E. wird somit auch durch die Anzahl der täglich verabreichten Teildosen beeinflußt: wird täglich bloß einmal injiziert, dann beträgt die C.M.E. dreimal soviel, wie wenn man

täglich zweimal injiziert. Bei unseren Versuchen bedienten wir uns stets des fraktionierten Verfahrens.

Wie erwähnt, wurde der Rindenextrakt aus den Nebennieren der Kontrolltiere hergestellt. Tabelle 1 zeigt, daß unter den Gruppen, die mit diesem Extrakt behandelt worden waren, von den Tieren, die die Verdünnung 0,67 erhalten hatten, 80% am Leben blieben. 0,25 ccm (Tagesdosis!) dieses Extrakts entsprechen demnach einer C.M.E., 1 ccm hingegen 4 C.M.E. Die Stammlösung enthält demnach 4 : 0,67 — 5,97 C.M.E. Nach Bomskov und Bahnsen erhält man ein noch genaueres Ergebnis, wenn man auch die Verhältniszahlen (%) der am Leben gebliebenen Tiere der anderen Gruppen beachtet und folgende Berechnung ausführt:

$$W = \frac{\Sigma W_n}{n} = \frac{W_1 + W_2 + W_3 + \ldots + W_n}{n},$$

wobei W den Wirkungswert des Extrakts bedeutet, der in der Zahl der in 1 ccm des Extrakts enthaltenen C.M.E. ausgedrückt wird. W_1, W_2. . . . W_n drücken den Wirkungswert der im Versuch verwendeten Verdünnungen des Originalextrakts aus und n bedeutet die Zahl der untersuchten Gruppen. Der bei den einzelnen Gruppen erzielte Wirkungswert wird aus der Zahl der je Gruppe am Leben gebliebenen Tiere berechnet, wobei das logarithmische Koordinatensystem als Richtschnur dient. Bezeichnet man die Verhältniszahl (%) der überlebenden Tiere einer Gruppe mit P_n, den auf den Originalextrakt bezogenen Verdünnungsgrad mit A_n und die Zahl der bei der fraglichen Tiergruppe injizierten ccm des Extrakts mit D, dann ergibt sich:

$$\log \cdot W_n = \frac{P_n}{100} - 0{,}8 - \log \cdot A_n + \log \cdot D.$$

Verdünnung	Überlebende Tiere %	C.M.E.
0,30	20	3,40
0,45	60	5,68
0,67	80	6,00
1,00	100	6,32

Setzt man die Werte der Tabelle 1 an die entsprechende Stelle und beachtet man zugleich die Tabelle von Bomskov und Bahnsen, dann erhält man die W_n-Werte der nebenstehenden Tabelle.

Aus den W_n-Werten der verschiedenen Gruppen ergibt sich der Mittelwert W = 5,35 C.M.E.; um sich genauer auszudrücken, nennen Bomskov und Bahnsen dies den „korrigierten Wirkungswert".

Aus dem bisher Gesagten geht demnach hervor, daß 1 ccm des aus der Nebenniere normaler (unbehandelter) Kaninchen hergestellten Rindenextrakts den Wirkungsstoff in einer Menge enthält, die einerseits 1,5 g frischer Kaninchennebenniere, andererseits 5,35 C.M.E. von korrigiertem Wirkungswert entspricht.

Im weiteren Verlaufe unserer Versuche verabreichten wir 50 Kaninchen 3 Monate hindurch jeden zweiten Tag je 50—70 ccm einer 0,5%igen

NH_4OH-Lösung durch die Magensonde, um auf diesem Wege die Hypertrophie der Nebennierenrinde hervorzurufen. Die derart behandelten Kaninchen töteten wir durch Erzeugung einer Luftembolie und stellten aus den Nebennieren genau in der oben beschriebenen Weise einen wässerigen Rindenextrakt her. Das gemeinsame Gewicht der beiden Nebennieren der mit Ammoniak behandelten Kaninchen schwankte zwischen 60 und 152 cg, der Mittelwert beträgt 73,50 cg. Das Gewicht sämtlicher Nebennieren der 50 Kaninchen betrug insgesamt 36,75 g. Wie oben gesagt, betrug hingegen das Gewicht beider Nebennieren bei den 100 normalen, unbehandelten Kaninchen 20—60 cg, im Durchschnitt 42,34 cg, und das Gewicht sämtlicher Nebennieren insgesamt 42,34 g. Im Vergleich zu den unbehandelten ist somit bei den mit Ammoniak behandelten Kaninchen eine 73,59%ige Gewichtszunahme der Nebennieren festzustellen. Aus den 36,75 g Nebennierensubstanz der 50 mit Ammoniak behandelten Tiere konnten wir 24,5 ccm wässerigen Rindenextrakt anfertigen, der in einem ccm soviel Rindenwirkungsstoff enthielt, wie 1,5 g frischer, aber vergrößerter Nebenniere entspricht.

Um die Wirksamkeit dieses Rindenextrakts festzustellen, behandelten wir abermals in der oben beschriebenen Weise infantile, adrenalektomierte weiße Mäuse 7 Tage hindurch mit verschiedenen Verdünnungen der Stammlösung. Die hier verwendeten Verdünnungen enthielten 0,13, 0,20, 0,30, 0,45, 0,67 ccm der Stammlösung; jede Verdünnung wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm ergänzt. Die behandelten Mäuse teilten wir wieder in Gruppen zu je 5 Tieren für jede Verdünnung ein; als Kontrolle dienten 5 nebennierenlose Mäuse, die nicht behandelt wurden. Die Mäuse waren 22—25 Tage alt und hatten ein Körpergewicht von 9—9,5 g. Die Tiere der einzelnen Gruppen erhielten von den entsprechenden Verdünnungen täglich zweimal je 0,125 ccm, also täglich insgesamt 0,25 ccm unter die Haut der Oberschenkel. Die Versuchsergebnisse s. Tabelle 2.

Am 8. Tage nach der Operation wurden sowohl die unbehandelten wie auch die mit dem Rindenextrakt der Ammoniak-Kaninchen behandelten

Tabelle 2.

Lebensdauer nach der Nebennierenexstirpation	Kontrollmäuse	Mäuse behandelt mit dem Rindenextrakt der Ammoniak-Kaninchen				
		Konzentration der Extrakte				
		0,13	0,20	0,30	0,45	0,67
1 Tag	—	1	—	—	—	—
2 Tage	1	—	—	—	—	—
3 „	1	1	—	—	—	—
4 „	2	—	—	—	—	—
5 „	1	—	—	—	—	—
6 „	—	1	—	—	—	—
7 „	—	—	1	—	—	—
Zugrunde gegangen	5 = 100%	3 = 60%	1 = 20%	∅	∅	∅
Am Leben geblieben	∅	2 = 40%	4 = 80%	5 = 100%	5 = 100%	5 = 100%

Mäuse durch Äther getötet; sowohl diese wie auch die bis dahin schon spontan verendeten Tiere wurden obduziert, wobei wir uns von dem vollständigen Fehlen der Nebennieren überzeugen konnten. Die Anzeichen des Nebennierenmangels (Adynämie, Frösteln usw.) traten — insbesondere in den Morgenstunden vor der Extraktinjektion — bei allen Tieren sämtlicher Gruppen in Erscheinung; bei den Tieren der 0,13-Gruppe kam es dabei auch zu Bradypnoe und Coma. Nach der Extraktinjektion schwanden jedoch diese Erscheinungen allmählich. Man kann genau beobachten, wie die Geschwindigkeit, mit der die Beweglichkeit der Tiere wiederkehrt bzw. zunimmt, mit der bei der entsprechenden Gruppe angewendeten Extraktkonzentration im geraden Verhältnis steht. Nach der Morgeninjektion der Verdünnung 0,67 und 0,45 erholten sich die Tiere in 15 Minuten, bei der Verdünnung 0,30 bedurfte es hierzu 30, bei der 0,20-Verdünnung 45 Minuten und bei der 0,13 Verdünnung erholten sich die Tiere dieser Gruppe erst in 2—3 Stunden. Im Laufe des Tages zeigte sich zwischen den Gruppen insofern ein Unterschied im Verhalten, daß die Tiere, die mit stärkeren Extraktkonzentrationen behandelt wurden, deutlich beweglicher waren; allerdings weniger beweglich als die Mäuse, deren Nebennieren nicht entfernt worden waren. Morgens waren die Ausfallserscheinungen stets stärker als später, denn zwischen der Morgeninjektion und der Nachmittagsinjektion verstrichen 9—10, zwischen der letzteren und der Injektion am nächsten Morgen jedoch 14—15 Stunden.

Sämtliche nebennierenlosen, aber unbehandelt gebliebenen Mäuse verendeten binnen 5 Tagen (100%). Unter den behandelten Mäusen waren am 8. Tage nach der Nebennierenexstirpation je nach der entsprechenden Gruppe (d. h. der verwendeten Extraktverdünnung) noch am Leben: 0,13-Gruppe: 40%, 0,20-Gruppe: 80%, und bei den Gruppen 0,30, 0,45 und 0,67 je 100% der Versuchstiere. Da der Begriff der Rindenwirkungsstoff-Einheit an das Überleben von 80% der Versuchstiere gebunden ist und bei unseren Versuchen 80% der 0,20-Gruppe am Leben geblieben waren, enthält die Tagesdosis der 0,20-Verdünnung, das sind 0,25 ccm, den 1 C.M.E. entsprechenden Rindenwirkungsstoff; 1 ccm dieser Verdünnung entspricht demnach 4 C.M.E. Daraus ergibt sich, daß 1 ccm der aus den Nebennieren der Ammoniak-Kaninchen hergestellten Extrakt-Stammlösung 4 : 0,20 = 20 C.M.E. enthält. Bei der Beachtung der Zahl (%) der innerhalb der einzelnen Gruppen am Leben gebliebenen Tiere lassen sich für die einzelnen Gruppen folgende korrigierte Wirkungswerte berechnen:

Verdünnung	0,13,	am Leben geblieben	40%	12,04	C.M.E.
„	0,20,	„ „	„ 80%	20,20	„
„	0,30,	„ „	„ 100%	21,40	„

Im Durchschnitt betragen diese Gruppen-Wirkungswerte 17,88 C.M.E., was dem korrigierten Wirkungswert entspricht.

Während also 1 ccm des aus normalen unbehandelten Kaninchen angefertigten Nebennierenrindenextrakts 1,5 g frischer Nebenniere entsprechend 5,35 C.M.E. (korrigierten Wirkungswertes) enthält, enthält 1 ccm des aus den Nebennieren der Ammoniak-Kaninchen hergestellten Rindenextrakts 1,5 g hypertrophischer Nebenniere entsprechend — 17,88 C.M.E. (korrigierten Wirkungswertes).

In der hypertrophischen Nebenniere der Ammoniak-Kaninchen findet sich demnach der Wirkungsstoff in einer Menge, die das 3,34fache der in den ebenso schweren Nebennieren der unbehandelten Kaninchen vorhandenen Menge beträgt. In C.M.E. ausgedrückt soll dies besagen: 17,88 : 5,35 = 3,34 = 334%. Wenn man noch beachtet, daß die Nebennieren der mit Ammoniak behandelten Kaninchen im Durchschnitt eine Vergrößerung von 73,59% aufweisen, zeigt sich, daß die Vermehrung des Rindenwirkungsstoffes noch mehr betrage. Aus den 42,34 g der von den 100 unbehandelten Kaninchen stammenden Nebennieren wurden — wie erwähnt — 28,23 ccm Rindenextrakt hergestellt. Nimmt man 50 unbehandelte Kaninchen, dann erhält man in obigem Sinne 21,17 g Nebennierenmasse bzw. aus dieser 14,12 ccm Rindenextrakt. In 1 ccm des letzteren (auf 1,5 g Nebenniere berechnet) sind 5,35 C.M.E. vorhanden, die ganze Stammlösung enthält demnach 14,12 × 5,35 = 75,54 C.M.E. Das Gewicht der aus den 50 Ammoniak-Kaninchen gewonnenen Nebennierenmasse betrug 36,75 g, daraus wurden 24,5 ccm Rindenextrakt hergestellt, der also 24,5 × 17,88 = 438 C.M.E. enthält. Teilt man nun den Gesamtwirkungswert (438) des aus den Nebennieren der 50 Ammoniak-Kaninchen angefertigten Extrakts (Stammlösung) durch den Gesamtwirkungswert (75,54) der aus den Nebennieren der 50 unbehandelten Kaninchen hergestellten Stammlösung, dann erhält man als Quotient die Zahl 5,80, die die Wirkungswertzunahme des aus den Nebennieren der Ammoniak-Kaninchen hergestellten Extrakts bedeutet. Mit anderen Worten: die hypertrophischen Nebennieren der Ammoniak-Kaninchen enthalten 5,80mal (= 580%) mehr Rindenwirkungsstoff als die Nebennieren der unbehandelten Tiere. Nach dem oben Gesagten läßt sich der Wirkungswert-Unterschied (bzw. die -Zunahme) mit Hilfe folgender Formel berechnen:

$$\Delta = \frac{A_2 \cdot W_2}{A_1 \cdot W_1},$$

wobei Δ den Wirkungswertunterschied, A_1 die Zahl der ccm des zum Vergleich dienenden Extrakts, A_2 die Zahl der ccm des untersuchten Extrakts (bei gleichem Drüsen-g-Gewicht/1 ccm), W_1 den korrigierten Wirkungswert des zum Vergleich dienenden Extrakts und W_2 den korrigierten Wirkungswert des untersuchten Extrakts bedeuten.

Aus unseren Versuchsergebnissen geht demnach hervor, daß in den Nebennieren der mit Ammoniak behandelten Kaninchen — auf gleiches Drüsengewicht berechnet — nahezu 3,5mal, und bei Beachtung des Grades

der Hypertrophie etwa 6mal soviel Rindenwirkungsstoff zu finden ist, wie in den Nebennieren der normalen, unbehandelten Kaninchen. Dies besagt zugleich, daß die Rindensubstanz der Ammoniak-Kaninchen im Vergleich zur Nebennierenrinde der unbehandelten Tiere eine stark erhöhte Funktion ausübt, die das Maß der Hypertrophie mehrfach, insgesamt etwa 6fach übersteigt. Man kann also durch die Ammoniakbehandlung eine Hyperfunktion der Nebennierenrinde erzielen, die bei weitem stärker ist, als der entstandenen Hypertrophie entspräche.

Wie weiter unten gezeigt werden soll, kommt unserem Ergebnis nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung zu.

Die Frage, ob die Menge der in der Nebennierenrinde vorhandenen Lipoide und die hormonale Funktion der Rinde miteinander zusammenhängen oder nicht, wird auch heute noch viel umstritten. Ein Teil der Forscher sieht in der Menge der Rindenlipoide den auch histologisch erfaßbaren Ausdruck der Rindenfunktion: die abnorme Vermehrung der Rindenlipoide spräche demnach für die Hyperfunktion, die abnorme Verminderung derselben für die Hypofunktion der Rinde. Ein anderer Teil der Forscher nimmt hingegen an, die Vermehrung der Lipoide in der Nebennierenrinde sei eine einfache Anhäufung oder eine Entartungserscheinung, durch die die Funktion der Zellen behindert und dadurch die Hypofunktion der Rindensubstanz bewirkt werde. Durch unsere früher veröffentlichten Ergebnisse und durch das oben Gesagte darf diese Frage unseres Erachtens als endgültig entschieden angesprochen werden.

Unsere früheren Versuchsergebnisse zeigten nämlich, daß der Cholesteringehalt der infolge der Ammoniakbehandlung hypertrophisch gewordenen Nebennieren 6,5mal, der Neutralfettgehalt dieser Organe 4,5mal größer sei als normalerweise. Durch die hier beschriebenen Versuche wurde nachgewiesen, daß die Nebennieren auf die Einwirkung der Ammoniakbehandlung etwa 6mal mehr Rindenwirkungsstoff enthalten als unter normalen Umständen. Durch diese beiden Feststellungen ist der Beweis erbracht, daß sich parallel mit der Vermehrung der Rindenlipoide, in erster Linie des Cholesterins, auch das Rindenhormon vermehre oder umgekehrt, daß parallel mit dem Einsetzen der Rindenhyperfunktion auch die Rindenlipoide, in erster Linie das Cholesterin, zunehmen. Bei unseren früheren Untersuchungen sahen wir auch in der Erhöhung des Blutdrucks sowie in der Gewichtszunahme der Versuchstiere den Ausdruck der Rindenhyperfunktion. Alle die hier genannten Ergebnisse sprechen somit für die Richtigkeit der oben an erster Stelle erwähnten Auffassung.

In gewissen Fällen scheinen jedoch die Forscher recht zu behalten, die sich der zweiten Auffassung anschließen. Anläßlich unserer früheren Untersuchungen fanden wir nämlich bei einem Teil der Versuchstiere Blutdruckerhöhung und Gewichtszunahme, die noch einige Monate nach der Ammoniakbehandlung anhielten. Später kam es aber bei diesen Tieren zur immer weiter fortschreitenden Gewichtsabnahme, so daß sich das

Körpergewicht nicht selten weit unter dem Ausgangswert befand; zugleich machte auch die frühere Blutdruckerhöhung einer allmählich zunehmenden Blutdrucksenkung Platz; der Blutdruck sank schließlich auch weit unter den Ausgangswert und die Tiere verendeten. In den Nebennieren dieser Kaninchen fanden sich stets zahlreiche und ausgebreitete nekrotische Herde sowie Narben; in den veränderten Gebieten war viel Neutralfett in der Form kleinerer oder größerer homogener Herde aufgestapelt; Cholesterin war hier hingegen nie nachzuweisen. Die derart veränderten Nebennieren waren zwar auch stark vergrößert, der Untergang der Rinde macht aber — trotz der erheblichen herdförmigen Fettanhäufung — die Abmagerung, die Blutdrucksenkung und den schließlichen Tod der Tiere verständlich, da dies alles zu den Ausfallserscheinungen des Nebennierenrindenmangels gehört. In diesen Fällen schien auch die Menge des Neutralfetts im Vergleich zu der des Cholesterins wesentlich vermehrt. Der zwischen den am lebenden Versuchstier wahrnehmbaren Erscheinungen und dem histologischen Bild der Nebennieren bestehende Parallelismus weist entschieden auf den Zusammenhang zwischen der Menge des Rindencholesterins und der Rindenhormonproduktion hin, was verständlich wird, wenn man bedenkt, daß das Rindenhormon ebenfalls eine Sterinart darstellt. Falls also die Entartung und Nekrose der Rindenzellen eine so große Ausdehnung erreicht, daß dadurch nicht nur die dem Maße der etwaigen Hypertrophie entsprechenden Gebiete, sondern darüber hinaus noch größere Rindenteile aufhören zu funktionieren, bereitet die Nebenniere verständlicherweise immer weniger Rindenhormon, und es entsteht schließlich die Hypofunktion mit allen ihren wohlbekannten Folgen — obwohl die Rinde viel Lipoid und besonders viel Neutralfett enthält.

Unsere Feststellungen bieten den einwandfreien Beweis, daß man imstande ist, ein Mitglied des endokrinen Drüsensystems, die Nebenniere durch die von außen kommende Einwirkung zu erhöhter Funktion anzuregen. Da dies bei der Nebenniere gelingt, darf man annehmen, daß eine ähnliche Möglichkeit auch in bezug auf die anderen endokrinen Drüsen bestehe. Dadurch bietet sich eine ausgedehnte Perspektive zur weiteren Erforschung der Funktion der endokrinen Drüsen sowie zur künstlichen Beeinflussung dieser Funktion. Unseren Versuchsergebnissen kommt nicht nur praktisch-therapeutisch, sondern darüber hinaus auch vom wirtschaftlichen Standpunkt eine große Bedeutung zu. In therapeutischer Hinsicht seien hier u. a. die Kranken erwähnt, die an der Hypoplasie der Nebenniere leiden, ferner jene, bei denen eine Nebennierenschädigung bzw. Nebennierenhypofunktion infolge endogener oder exogener Einwirkungen (Bakterientoxine, Stoffwechselabbauprodukte, gewisse Vergiftungen usw.) besteht und schließlich die Addison-Kranken. Unsere Versuchsergebnisse berechtigen u. E. zu der Annahme, daß es — nach der Ausführung entsprechender diesbezüglicher Versuche — in der Zukunft gelingen werde, die Hypofunktion der Nebennieren auch beim Menschen durch äußere

Einflüsse zu beseitigen bzw. den notwendigen Grad der Nebennierenfunktion zu erreichen. Die Verwirklichung dieses Zieles durch die Wiederherstellung der bis dahin verminderten Funktion der Nebenniere würde einerseits eine ideale Kausaltherapie darstellen, andererseits könnte man die kostspielige Substitutionstherapie auf die wenigen akuten Anzeigen beschränken, woraus sich eine nicht unerhebliche Ersparnis ergäbe.

Es kommen aber auch noch andere wirtschaftliche Faktoren in Betracht. Aus dem Ausbleiben der großen, der Anfertigung des Rindenhormons dienenden Nebennierensendungen aus Übersee in außergewöhnlichen Zeiten ergeben sich Schwierigkeiten auf dem Gebiete der Herstellung. Die Betriebe, die sich mit der Züchtung von Schlachtvieh (Rinder, Schweine usw.) in größerem Maßstabe befassen, könnten die Tiere in einer Weise behandeln, die die Hypertrophie der Nebennierenrinde zum Ziele hat, ohne jedoch die Genießbarkeit des betreffenden Fleisches in geringstem Grade zu beeinträchtigen. Durch dieses mit recht geringen Unkosten verbundene Verfahren könnte man aus diesen Tieren 5—6mal (oder das Mehrfache) mehr Rindenhormon erzeugen als aus unbehandelten Tieren. Dies würde auch für den Züchter ein Mehr an Einkünften bedeuten, in erster Linie würde aber die medizinisch-chemische Fabrik auf raschem und billigem Wege in den Besitz der nötigen Nebennierenmenge gelangen; dies wieder würde die Beseitigung der Herstellungsschwierigkeiten sowie die Senkung des Rindenhormon-Preises zur Folge haben.

Zusammenfassung.

Sowohl aus der Nebenniere gesunder, unbehandelter wie auch aus der hypertrophischen Nebenniere der mit Ammoniak behandelten Kaninchen wurden nach dem Verfahren von Swingle und Pfeiffner Rindenextrakte zubereitet. Die Wirksamkeit derselben untersuchte Verfasser mit Hilfe des biologischen Verfahrens nach Bomskov und Bahnsen und verwendete zu diesen vergleichenden Untersuchungen infantile, adrenalektomierte weiße Mäuse mit einem Körpergewicht von 9—9,5 g. Ergebnisse:

1. Aus den Nebennieren (Gesamtgewicht sämtlicher Drüsen = 42,34 g) der 100 gesunden, unbehandelten Kaninchen (Körpergewicht der Tiere 2500—3500 g) konnten 28,23 ccm eines wässerigen Extrakts angefertigt werden, der in 1 ccm soviel Rindenwirkungsstoff enthält, wie je 1,5 g frischer Nebenniere entspricht.

2. Aus den Nebennieren (Gesamtgewicht 36,75 g) der 50 Kaninchen mit ähnlichem Körpergewicht, die vorher 3 Monate hindurch jeden zweiten Tag 50—70 ccm 0,5%iges NH_4OH durch die Magensonde erhalten hatten, wurden 24,5 ccm eines wässerigen Extraktes hergestellt, der in 1 ccm soviel Rindenwirkungsstoff enthält, wie ebenfalls 1,5 g frischer, aber hypertrophischer Nebenniere entspricht.

3. Der Gehalt an Rindenwirkungsstoff betrug in 1 ccm des Rindenextrakts aus den Nebennieren der unbehandelten Kaninchen 5,35 corticodynamische Mäuseeinheiten (C.M.E.), in 1 ccm des Rindenextrakts aus den hypertrophischen Nebennieren der mit NH_4OH behandelten Tiere 17,88 C.M.E., stets auf den korrigierten Wirkungswert berechnet.

4. Die Nebenniere der mit Ammoniak behandelten Kaninchen enthält demnach — auf gleiches Drüsengewicht berechnet — 3,5mal, bei der Beachtung des Grades der Hypertrophie (73,59%) hingegen 6mal mehr Rindenwirkungsstoff als die Nebenniere der unbehandelten Tiere.

Durch das bisher Gesagte erscheint demnach folgendes bewiesen:

5. Die Nebennierenrinde der mit Ammoniak behandelten Kaninchen übt eine den Grad der Hypertrophie mehrfach — insgesamt etwa 6mal — übersteigende Hyperfunktion aus.

6. Parallel mit der Vermehrung der Rindenlipoide, in erster Linie des Cholesterins, nimmt auch die Menge des Rindenhormons zu. Die Vermehrung der Rindenlipoide (Cholesterin) und die Hyperfunktion der Rinde verlaufen also parallel miteinander.

7. Die Funktion der Nebennierenrinde läßt sich durch äußere chemische Einwirkungen wesentlich steigern.

8. Es besteht die Möglichkeit, die durch verschiedene Ursachen hervorgerufene Hypofunktion der Nebennierenrinde durch die pharmakologische Steigerung der Nebennierenrindenfunktion zu beseitigen und somit physiologische Verhältnisse zu schaffen.

Literatur.

1) Beznák u. Sarkady: Pflügers Arch. **234**, 157 (1934); Magyar Orvosi Archivum **35**, 97 (1934). — 2) Frau Beznák, Hajdu u. Korényi: Magyar Orvosi Archivum **41**, 175 (1940). — 3) Bomskov u. Bahnsen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 1 (1935). — 4) Bomskov: Methodik der Hormonforschung, Bd. 1. Leipzig, Verlag Georg Thieme, 1937. — 5) Donaldson u. Meeser: Amer. J. Anat. **50**, 359 (1932); Ref.: Ber. ü. d. Ges. Phys. u. exper. Pharm. **70**, 91 (1933). — 6) Embden u. Lehnartz: Klin. Wschr. **9**, 937 (1930). — 7) Fazekas: Endokrinologie **21**, 315 (1939); Magyar Orvosi Archivum **40**, 256 (1939). — 8) Fazekas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 93 (1935); Magyar Orvosi Archivum **36**, 285 (1935). — 9) Fletcher u. Hopkins: Physiol. (Brit.) **35**, 247 (1906/07). — 10) Gaessler: Klin. Wschr. **9**, 1222 (1930). — 11) Hill, Long u. Lupton: Proc. Soc., Ser. B **96**, 438 (1924); Ref.: Ber. ü. d. Ges. Phys. u. exper. Pharm. **29**, 561 (1925). — 12) Kalk u. Bonis: Z. Klin. Med. **123**, 731 (1933). — 13) Parnas, Mozolowsky u. Lewinski: Klin. Wschr. **6**, 1710 (1930). — 14) Pechstein: Biochem. Z. **68**, 140 (1915). — 15) Reichstein: Zit. nach Bomskov u. Verzár. — 16) Ruzicka u. Stepp: Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung. Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H., 1938. — 17) Swingle u. Pfiffner: Bomskov: Methodik der Hormonforschung **1**, 538 (1937). Leipzig, Verlag G. Thieme. — 18) Thaddea: Die Nebennierenrinde. Leipzig, Verlag G. Thieme, 1936. — 19) Verzár: Die Funktion der Nebennierenrinde. Basel, Verlag B. Schwabe & Co., 1939.

Aus der Medizinischen Klinik Bonn. (Direktor: Prof. P. Martini.)

Der Nachweis von CS_2 bei der chronischen CS_2-Vergiftung und sein Verhalten im Organismus.

Von

Franz Harren.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1941.)

Der Ausbau der modernen Industrie, die Entwicklung neuer Werkstoffe und ihre technische Herstellung in der chemischen Großindustrie haben in dem vergangenen Jahrzehnt eine ungeahnte Entwicklung genommen. Dies gilt hauptsächlich für einen besonders wichtigen Werkstoff, die Kunstfaser, die heute einen unentbehrlichen Rohstoff nicht nur für unsere gesamte Bekleidungsindustrie darstellt. Eine besondere Bedeutung hat dabei die Fabrikation der Zellwolle gewonnen. Stieg doch der Verbrauch an Zellwolle von 4500 t im Jahre 1933 auf fast 100000 t im Jahre 1937; der Bedarf an diesem technisch so wichtigen Produkt hat sich dabei in den letzten 3 Jahren noch wesentlich erhöht. Die Gewinnung der Zellwolle bedient sich dabei eines Lösungsmittels, dem CS_2, der wegen seiner großen Giftigkeit zu gesundheitlichen Schädigungen Veranlassung geben kann, die heute das besondere Interesse des Arztes verdienen. In den letzten 3 Jahren häufte sich in dem Kranken- und Beobachtungsgut der hiesigen Klinik das Krankheitsbild der chronischen CS_2-Vergiftung in auffallender Weise. Es waren fast ausschließlich Arbeiter, die auf Veranlassung der Staatlichen Aufsichtsbehörde in der Klinik wegen des Verdachts einer chronischen CS_2-Vergiftung zu begutachten waren. Dank der vorbeugenden Bestimmungen der Gewerbe und Unfallschutzgesetzgebung boten die Erkrankten keine ausgesprochenen schweren Symptome in dem Sinne, wie sie ausführlich in der Monographie Laudenheimers (1), sowie von Stadelmann (2), Raniletti (3), Baader (4), Engelhardt (5) und anderen geschildert werden. Fälle akuter Schwefelkohlenstoffvergiftung zählen nicht zu den von uns klinisch untersuchten Patienten. Es waren ausschließlich Arbeiter, die durchschnittlich 2—16 Monate in einer Zellwollefabrik, vornehmlich im Spinnsaal, gearbeitet hatten. Die Gewinnung der Zellwolle bedient sich wohl weitgehendst maschineller Einrichtungen, doch sind für deren Wartung zahlreiche Hilfskräfte nötig, die der Gefahr einer Schwefelkohlenstoffvergiftung ausgesetzt sind.

Bei der Herstellung der Viskose-Kunstseide oder Zellwolle werden Zellstoffblätter, z. B. Sulfitzellstoff, den man im wesentlichsten durch Extraktion des

Lignins mit Calciumbisulfit heute aus den verschiedensten Holzarten gewinnt, in etwa 17% Natronlauge zur Quellung gebracht und die Nicht-α-Cellulose gelöst. Die gebildete Alkaliverbindung der Alphacellulose wird abgepreßt und einem Vorreifungsprozeß über 80—90 Stunden bei 20—25° unterworfen. In diesem Reifungsprozeß erfährt die so vorbehandelte Alphacellulose einen für techn. Prozesse erforderlichen Abbau zu kleineren Molekülen. Diese Alkalicellulose wird darauf mit CS_2 in großen Sulfidiertrommeln zu dem xanthogensauren Salz umgesetzt. Das so hergestellte Alkalixanthogenat wird abermals in verdünnter NaOH gelöst, einem zweiten Reifungsvorgang unterworfen und diese Lösung, nunmehr Viskose genannt, filtriert und durch eine Reihe enger paralleler Düsen in Fällbäder gepreßt, welche Säuren bestimmter Konzentration zur Zersetzung des Xanthogenats und Salze zur Herabsetzung der Quellung der Cellulosefäden enthalten. Diese so regenerierte Cellulose wird zur Beseitigung des bei der Ausfällung entstehenden CS_2 in warmen Bädern ausgewaschen, abgepreßt, getrocknet und zerfasert.

Die Möglichkeit einer CS_2-Vergiftung ist hauptsächlich bei der Reinigung der Sulfidiertrommeln (akute CS_2-Vergiftung) sowie bei der Beaufsichtigung der Fällbäder im Spinnsaal gegeben (chronische CS_2-Vergiftung). Sie kann besonders leicht dann eintreten, wenn die hierfür getroffenen Maßnahmen des Gesetzgebers nicht oder nur ungenügend beobachtet werden.

Das klinische Bild der chronischen CS_2-Vergiftung ist ausgezeichnet durch die Vielfalt seiner Symptome, die sich nur selten in eine einheitliche klinische Symptomatologie einordnen lassen. Insbesondere dann, wenn, wie in unseren vorliegenden über 60 Fällen, die zur Begutachtung in der hiesigen Klinik weilten, längere Zeit der Arbeitsunterbrechung seit dem Beginn der Symptome verstrichen war. Im Vordergrund standen in allen unseren Fällen die subjektiven Symptome der Erkrankten, wie Schwindelgefühl, Appetitlosigkeit und die darauf beruhende Gewichtsabnahme, Müdigkeit und Abgeschlagenheit. All unsere Patienten klagten über Herabsetzung bzw. Erlöschen der sexuellen Erregbarkeit. Störungen von seiten des Zentralnervensystems in Form von Lähmungen bzw. schwere neuritische Ausfallserscheinungen, sowie Psychosezustände wurden nicht beobachtet. Dagegen wurden häufig Klagen über Kribbeln und Ameisenlaufen sowie über geringgradige Parästhesien an den Armen und Beinen vorgebracht. Reflexstörungen, die mit Sicherheit auf die CS_2-Intoxikation bezogen werden können, sind nur bei den schweren chronischen Vergiftungen zu beobachten. Wir selbst haben einige Male das Fehlen des Rachenreflexes und eine herabgesetzte Akkommodationsfähigkeit gesehen, auch fehlende bzw. leicht erschöpfbare Bauchdeckenreflexe beobachtet, doch sind diese Ausfallserscheinungen zu Beginn keineswegs so häufig und charakteristisch, als daß daraus mit Sicherheit eindeutig auf das Vorliegen einer CS_2-Vergiftung geschlossen werden darf. Charakteristische Veränderungen des Blutbildes sind im Schrifttum nicht beschrieben und auch von uns nicht beobachtet worden.

Infolge dieses Mangels sicherer objektiver Anzeichen besonders für eine leichte CS_2-Intoxikation steht der begutachtende Arzt oft vor der

sehr schwierigen Aufgabe, zu entscheiden, ob die geklagten Beschwerden Folgen einer CS_2-Intoxikation sind oder ob hier andere Ursachen in Frage kommen. Es wurde deshalb versucht, den Schwefelkohlenstoffnachweis im Blute zu erbringen, wobei an die zur Anwendung kommende Methode bezüglich der Empfindlichkeit des Nachweises kleinster Mengen besonders hohe Anforderungen zu stellen waren. In der modernen gewerbemedizinischen Literatur wird besonders die Wichtigkeit des Nachweises von CS_2 betont. Vornehmlich Rodenacker (6) betont die Notwendigkeit dieses Nachweises als besonders wichtige differentialdiagnostische Methode zur Abgrenzung gegen andere somatische und nervöse Erkrankungen. Rodenacker bedient sich dabei einer chemischen Methode zum Nachweis von CS_2 im Blute, die wir für unbrauchbar halten. Wir werden am Schluß unserer Ausführungen diese Tatsache mit den notwendigen analytischen Unterlagen belegen. Dagegen schien uns die Methode von Harrower und Wiley (7) geeignet, den hohen Anforderungen des Nachweises kleinster Mengen von CS_2 zu genügen, da sie erlaubt, noch 5 γ CS_2 in 10 ccm Blut mit der für eine Mikromethode hinreichenden Genauigkeit quantitativ zu erfassen. Sie bedient sich dabei folgender chemischer Reaktion:

$$CS_2 + KOC_2H_5 \rightarrow KSCSOC_2H_5;$$
$$2\,KSCSOC_2H_5 + J_2 \rightarrow (SCSOC_2H_5)_2 + 2\,KJ,$$

die von Zeise (8) entdeckt und später von Dessains (9) und von Delachanal und Mermet (10) und vielen anderen zur quantitativen Bestimmung von CS_2 benutzt wurde.

Aus der Tabelle 1 ist zu ersehen, daß die vorgelegten Mengen von CS_2 zu etwa 90% wiedergefunden werden.

Tabelle 1.

Auf ccm Blut	Zusatz von CS_2 in γ	Zurückgefundene Menge in γ	In Prozent
10	57,3	55,2	96,3
10	12,6	12,6	100,0
5	5,0	4,5	90,0
10	4,5	4,4	98,0
10	5,0	4,4	88,0
10	63,0	59,4	94,2
10	63,0	60,9	96,6
5	31,5	30,6	97,1
1	252.4	248,4	98,4
2	504,8	485,1	96,1
3	1514,0	1454,0	96,1

Es wurden nun seinerzeit einer Reihe von Patienten, die zur Begutachtung wegen des Verdachts einer CS_2-Vergiftung in der Klinik lagen, je 20 ccm Blut aus der Armvene entnommen und in je 10 ccm die CS_2-Bestimmung ausgeführt. In allen Fällen ergab sich der Blindwert der Methode.

niemals konnte auch nur eine Spur von CS_2 nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis war insofern nicht enttäuschend, als bereits eine längere Zeit der Arbeitsunterbrechung bei den Erkrankten vorlag.

Dank dem Entgegenkommen des Direktors einer Zellwollefabrik war es uns möglich, bei 13 Arbeitern, die nachweislich alle länger als 3 Monate im Spinnsaal vorwiegend an den Fällbädern, also an der Stelle, die als besonders gefährdeter Arbeitsplatz angesehen werden darf, beschäftigt waren, am Ende der Schicht Blut zu entnehmen und auf seinen CS_2 Gehalt zu untersuchen. Auch hierbei gelang es nicht, CS_2 im Blute nachzuweisen. (Dissertation Welte-Schneider.)

Dem Chefarzt des zuständigen Krankenhauses verdanken wir fünf Blutentnahmen von Arbeitern, die während der Arbeitszeit an Symptomen erkrankten, die den Verdacht einer akuten CS_2-Vergiftung erweckten.

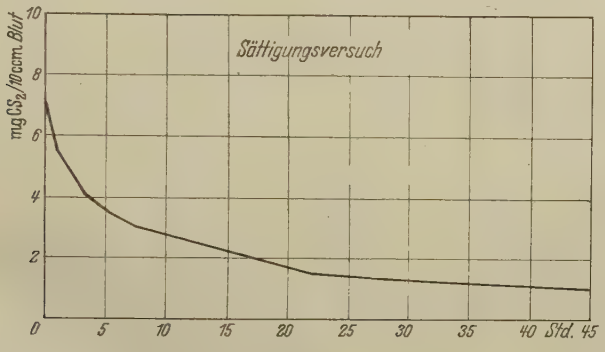


Abb. 1.

Nach Einlieferung ins Krankenhaus wurde sofort Blut entnommen und auf dem schnellsten Wege in unser Laboratorium gebracht und analysiert. Auch unter diesen Voraussetzungen gelang es nicht, CS_2 im Blut zu finden.

Daß CS_2 jedoch im Blute sich löst und durch Diffusion in die umgebende Luft verschwindet, ist aus folgendem Modellversuch ersichtlich. Ein indifferentes Gas (O_2, Luft, CO_2, N_2) wird durch CS_2 geleitet und das durch $CdCl_2$ gewaschene Gasgemisch wird durch Rinderblut geleitet. Aus dem Abfall der Abb. 1 nach verschiedenen zeitlichen Entnahmen ersieht man die Abnahme des CS_2-Gehalts in 10 ccm Blut beim Stehenlassen des so vorbehandelten Blutes. Die Geschwindigkeit des Abfalles ist naturgemäß abhängig von der Anfangskonzentration und von der Größe der Oberfläche des Gefäßes, eine solche Kurve also nur relativ zu bewerten. Aber man durfte aus dem Ergebnis den Schluß ziehen, daß der im Blute durch Einatmung aufgenommene CS_2 sehr rasch wieder abgeatmet wird, dies um so mehr, als es sich sowohl bei den akuten und vielmehr noch bei den chronischen Vergiftungen um wesentlich geringere Konzentrationen handeln wird. Es versteht sich nach dem Gesagten von

selbst, daß der gesamte CS_2-Gehalt aus dem Blute wieder durch ein indifferentes Gas oder auch durch Evakuieren ausgetrieben werden kann.

Die folgenden Narkoseversuche sollten Klarheit darüber bringen, in welcher Geschwindigkeit der über den Weg der Einatmung ins Blut gelangte CS_2 wieder abgeatmet wird. Die Narkoseversuche wurden an Kaninchen durchgeführt, weil sich nach Lehmann (11) diese Tierart als besonders widerstandskräftig erwies und sie außerdem für uns am leichtesten zu beschaffen war. Wegen der geringen Narkosebreite des CS_2 und des stets zu beobachtenden starken Erregungszustandes zu Beginn und während der Narkose erschien es zweckmäßig, ein Äther-Schwefelkohlenstoffnarkosegemisch zu verwenden. Wir verwandten auf 4 Teile Äther 1 Teil CS_2. Nach Absetzen des Äther-CS_2-Narkosegemisches wurde bis zum Versuchsende eine leichte Äthernarkose aufrechterhalten und das Tier im Anschluß daran durch Nackenschlag getötet. In einigen Fällen wurde der nach dem Töten spontan gelassene Urin ebenfalls auf CS_2 untersucht. Es fanden sich dabei in 5 ccm Urin 8,4 γ bzw. 14,2 γ CS_2.

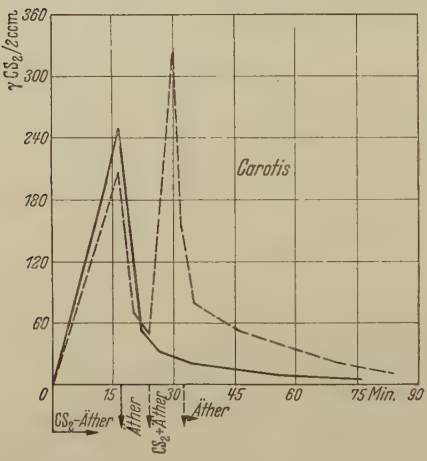


Abb. 2.

In Narkose wurde die Carotis communis frei gelegt und eine kleine Glaskanüle eingebunden; in einer Reihe von weiteren Versuchen wurde auch noch die gegenüberliegende Vena jugularis freipräpariert und ebenfalls eine Glaskanüle eingeführt. So war es möglich, genügende Mengen Arterien und Venenblut rasch und gleichzeitig zu gewinnen. Entnommen wurden jeweils 2,2—2,4 ccm Blut, dem 0,2 ccm einer 2%igen Ammoniumoxalatlösung zugesetzt waren. Auf Doppelbestimmungen konnte in der Folge verzichtet werden, nachdem in mehreren Versuchen es sich gezeigt hatte, daß die Ergebnisse stets hervorragend übereinstimmten.

Die Abb. 2 zeigt einen solchen Narkoseversuch. Die Höhe des steilen Anstiegs der Kurve unter CS_2-Äthernarkose ist von Versuch zu Versuch verschieden. Diese Verschiedenheit rührt von der unterschiedlichen Atmung der einzelnen Tiere her und vor allen Dingen von der Tatsache, daß die Narkose als Inhalationsnarkose durchgeführt werden mußte. Nach Absetzen der Narkose fällt die Kurve steil ab und der CS_2-Gehalt wird dann, nachdem er etwa 60 γ in 2 ccm Blut beträgt, wesentlich langsamer abgeatmet. Die zweite Kurve [in gleicher Abb. 2 (------) gezeichnet] unterscheidet sich von der vorhergehenden dadurch, daß nach dem Absetzen des CS_2-Äthers nochmals eine CS_2-Äthernarkose angeschlossen wurde.

Ihr Verlauf bestätigt die Forderung des abermaligen erneuten hohen und steilen Anstiegs, jähen Abfalls nach jeweiligem Absetzen des CS_2 und nachfolgenden langsameren Abatmens in der Folgezeit.

Untersucht man unter denselben Versuchsbedingungen gleichzeitig entnommenes Arterien- und Venenblut, so ergibt sich folgender Kurven-

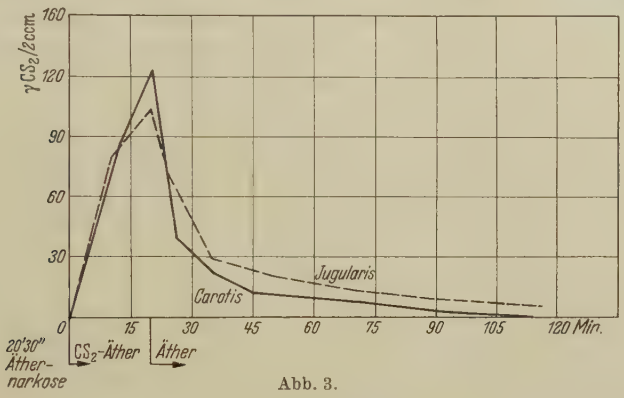


Abb. 3.

verlauf (Abb. 3). Sowohl in Arterie als auch Vene Ansteigen des CS_2-Gehalts. Der Venenwert bleibt erwartungsgemäß zunächst stets unter dem zugehörigen Arterienwert. Nach Absetzen der CS_2-Narkose überkreuzen sich in der Folge beide Kurven in dem Sinne, daß das Venenblut stets einen höheren Gehalt an CS_2 hat als das zu gleicher Zeit entnommene Arterienblut. Die Ursache des stets höheren CS_2-Gehalts im Venenblut hat wohl seine Ursache in der Speicherung des CS_2 in den Organen. (Hier vornehmlich in der lipoidreichen Substanz des Gehirns.) Aber auch der Venenwert fällt sehr schnell ab; der gespeicherte CS_2 verschwindet relativ rasch wieder aus dem Organismus.

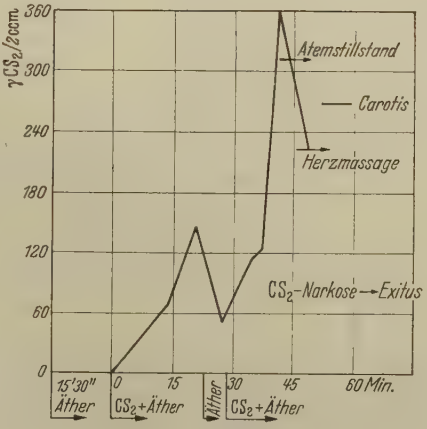


Abb. 4.

Es war in dieser Hinsicht für uns von Interesse, wie hoch — bei gleicher Versuchsanordnung — der CS_2-Gehalt im Blute bei Kaninchen ansteigt, wenn man die Narkose bis zum Tode eines Tieres ausdehnt. In der Abb. 4 steigt zunächst der CS_2-Gehalt auf 146 γ, nach Aussetzen der Narkose fällt er auf 53 γ ab und steigt nun im weiteren Verlauf der erneuten CS_2-

Äthernarkose bis auf 358 γ = 17,9 mg%. Im weiteren Verlauf sinkt der CS_2-Gehalt des Blutes stark ab; das Atemzentrum des Tieres war bereits schwer geschädigt. Kurz vor dem Atemstillstand war der CS_2-Gehalt auf 308 γ/2 ccm abgesunken. Nach Atemstillstand wurde der Thorax eröffnet und nach Herzstillstand durch Herzmassage das letzte Blut zur Untersuchung gewonnen (225 γ).

Vergleicht man die Abb. 2 und 3 miteinander, so fällt darin auf, daß, abgesehen von dem von Tier zu Tier schwankenden Anstieg während der CS_2-Äthernarkose, der Abfall nach Absetzen dieser Narkose steil erfolgt und daß dann der weitere Kurvenverlauf während der Abatmung relativ gleichartig verläuft. Bei dieser relativ gleichen Abatmungsgeschwindigkeit war es naheliegend, zu versuchen, mit Kreislaufmitteln der verschiedensten Wirksamkeit die Abatmung des CS_2 aus dem Blute im günstigen

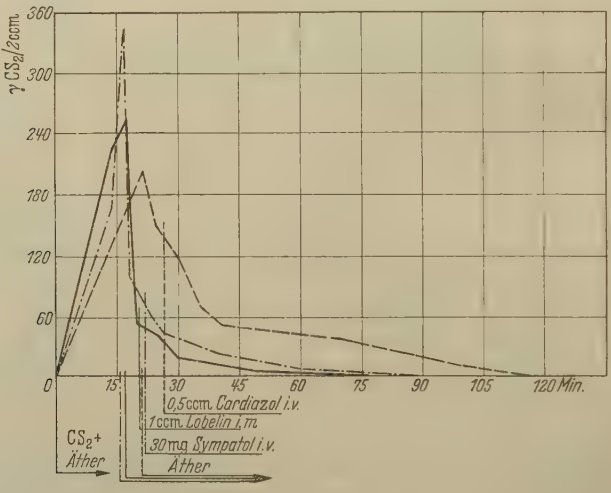


Abb. 5.

Sinne zu beeinflussen. Zur Prüfung dieser Frage wurden Cardiazol, Sympatol, Lobelin und das Kombinationspräparat Lobesym verwandt. Unmittelbar nach dem Absetzen der CS_2-Äthernarkose, Raumwechsel und der ersten Blutabnahme in reiner Äthernarkose wurde das Kreislaufmittel verabreicht (Abb. 5).

Bei dem Vergleich mit der Normalkurve (Abb. 2) sieht man, daß ein eindeutiger Erfolg im Sinne eines rascheren Verschwindens von CS_2 durch Sympatol, Cardiazol und Lobelin nicht erreicht wird.

Injiziert man bei gleicher Anordnung nach dem Absetzen der CS_2-Äthernarkose 1 ccm Lobesym i. m. (1 ccm = 15 mg Lobelin hydrochl. + 100 mg Sympatol phosphor.), so ist bereits nach 72 Minuten praktisch kein CS_2 im Blute mehr nachzuweisen (siehe Abb. 6). Dieses raschere Verschwinden aus dem Arterienblut darf man wohl dem Lobesym zur

Last legen. (Diese therapeutischen Versuche sollen zu späterer Zeit und auf breiterer Basis wieder aufgenommen werden.) Die Abatmungsgeschwindigkeit im Venenblut wird auch durch die Lobesymgabe nicht beeinflußt. (Die Venenwerte sind aus Gründen der besseren Übersicht in dieser Kurve nicht eingezeichnet.)

Führt man bei einem Kaninchen eine akute CS_2-Vergiftung durch (Vergiftung durch Luft-CS_2 unter einer großen Glasglocke) und untersucht den Abfall des CS_2-Gehalts im Venenblut, erhält man nachfolgendes Bild

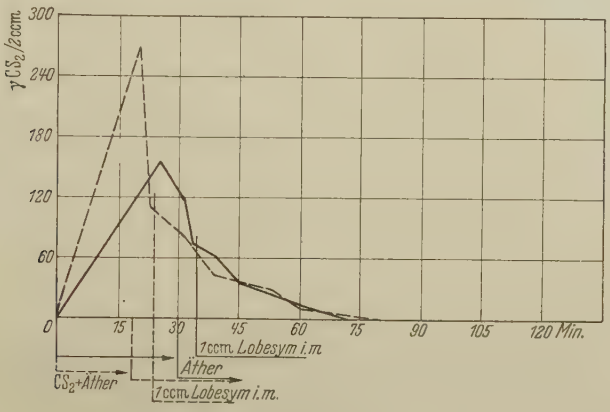


Abb. 6.

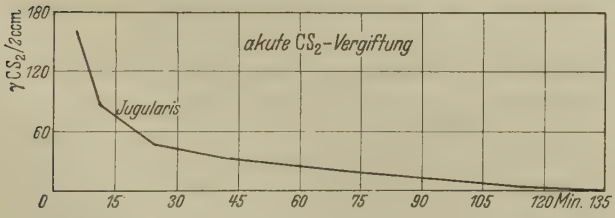


Abb. 7.

(Abb. 7). Der Verlauf und die Geschwindigkeit des verschwindenden CS_2 aus dem Venenblut verläuft durchaus gleichsinnig wie bei der CS_2-Äthernarkose (Abb. 2 und 3).

Der vergebliche Versuch, CS_2 im Blute bei Arbeitern in einer Zellwollefabrik am Ende der Schicht nachzuweisen, war für uns Veranlassung zu untersuchen, bei welcher Konzentration im Tierversuch der CS_2-Nachweis gelingt. Nach den Bestimmungen der Gewerbe- und Unfallschutzgesetzgebung soll der CS_2-Gehalt der Luft nicht über 0,15—0,20 mg CS_2 pro Liter Luft betragen.

Zwei Kaninchen wurden über 8 Wochen in einem geschlossenen Raum gehalten. Die Konzentration betrug zunächst 10 Tage 0,32 mg/Liter Luft und die restliche Zeit bis zu 8 Wochen 0,65 mg/Liter Luft. Nach dieser

Zeit wurde Venenblut untersucht und bei einem Tier 10,65 γ bzw. 9,89 γ, bei dem zweiten übereinstimmend 8,31 γ CS_2 in 2 ccm Blut gefunden. Wenn man bedenkt, daß die CS_2-Konzentration der Luft sicher ein Vielfaches betrug gegenüber der Konzentration, die als höchstzulässig für das Arbeiten in CS_2-haltiger Luft gilt und man den geringen CS_2-Gehalt bei diesen beiden Tieren bedenkt, andererseits das rasche Verschwinden des CS_2 bei den Narkoseversuchen berücksichtigt, dann erscheint es einleuchtend, selbst bei Berücksichtigung der verschiedenen Empfindlichkeit zwischen Tier und Mensch, warum der Versuch des Nachweises von CS_2 bei chronischer CS_2-Vergiftung wenig Aussicht auf Erfolg verspricht.

Diese von uns erhobenen, durch Versuche am Menschen und Tier erhaltenen Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den Befunden von Rodenacker. In seinem Buch „Die chemischen Gewerbekrankheiten" (Verlag Joh. Amb. Barth, 1940) schreibt der Autor, daß die Feststellung des CS_2 im Blute die Diagnose der CS_2-Intoxikation sichere. Er führt dabei aus (S. 173), daß man heute für die CS_2-Bestimmung zwei Methoden zur Verfügung habe. Einmal die Bestimmungsmethode von Harrower und Wiley, die auch wir angewandt haben, und die von ihm ausgearbeitete Methode. Er erhitzt 10 ccm Blut, dem 1 ccm einer 5%igen Natriumcitratlösung zugesetzt wird, 20 Minuten am Rückflußkühler auf dem Sandbad; an dem Liebigkühler ist eine Vorlage mit alkoholischer Kalilauge angeschlossen. Er fährt dann wörtlich weiter: „Bei der trockenen Destillation von Blut muß immer CS_2 entstehen, denn es enthält ja C und S." Wir halten es zunächst für irrig, das „Kochen am Rückflußkühler" mit dem Begriff der trockenen Destillation gleichzusetzen. Es ist ferner jedem Chemiker sehr wohl geläufig, daß für die Darstellung von CS_2 z. B. Schwefeldampf über glühenden Koks geleitet wird. Dazu sind aber immerhin Temperaturen von über 500° notwendig, ein Temperaturbereich, der aber beim Kochen des Blutes am Rückflußkühler niemals erreicht wird.

Es erschien vielmehr die Annahme naheliegender, daß überhaupt keine CS_2-Bildung aus Normalblut erfolgt, sondern daß ein anderes jodverbrauchendes Spaltprodukt entsteht. In erster Linie ist dabei an eine Bildung von H_2S aus Normalblut zu denken. Es galt also zu beweisen, daß unter den Rodenackerschen Versuchsbedingungen beim Normalblut nicht CS_2, sondern H_2S gebildet wird. Denn Rodenacker gibt an, daß der CS_2-Titer im Blute beim Normalen 0,2—0,5 mg in 10 ccm Blut beträgt (200—500 γ). Bei Menschen, die vermehrt mit CS_2 arbeiten, soll sich dieser Titer erhöhen. Diese Erhöhung des CS_2-Titers spräche also im Zusammenhang mit der Berufsanamnese und dem klinischen Befund für eine CS_2-Intoxikation.

Erhitzt man 50 ccm Blut unter Citratzusatz am Rückflußkühler unter gleichzeitigem Durchleiten von sorgfältig gereinigtem N_2, dann erhält man in einer der alkoholischen KOH vorgeschalteten Waschflasche von $CdCl_2$ einen einwandfreien gelben Niederschlag von CdS. Mit nur 10 ccm

Blut ist unter den Rodenackerschen Versuchsbedingungen nur eine sehr geringe CdS-Bildung zu beobachten. Man muß deshalb versuchen, die gebildete kleine Menge von H_2S kolorimetrisch nachzuweisen. Dies gelingt einwandfrei mit einer Reaktion, die 1928 Lorant (12) zum ersten Male zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung kleiner Mengen H_2S benutzt hat. Diese Reaktion haben neuerdings auch Freudenberg (13) und Freudenberg und Münch (14) dazu benutzt, Mikromengen von H_2S bei der alkalischen Spaltung von Insulin nachzuweisen. Dieser qualitative und quantitative Nachweis von H_2S beruht auf der Bildung von Methylenblau. Mit Hilfe dieser Reaktion gelang es, einwandfrei bei Erhitzen von Normalblut auch H_2S nachzuweisen. Wir sind gegenwärtig damit beschäftigt, den Abspaltungsmechanismus von H_2S aus dem Blut von Gesunden und Kranken zu studieren; die Ergebnisse werden an anderer Stelle demnächst veröffentlicht werden.

Fängt man nun den beim Erhitzen des Normalblutes entstehenden H_2S sorgfältigst ab, dann gelingt es nicht, aus dem Normalblut meßbare Mengen Jod für die Bildung von CdS in Rechnung zu setzen. Läßt man jedoch die Vorlagen, die den entstehenden H_2S absorbieren, weg und verwendet zur Absorption des entstehenden Gasgemisches ausschließlich alkoholische KOH und berechnet diesen Jodverbrauch fälschlicherweise auf CS_2, dann erhält man die Werte, die Rodenacker als seine Normalwerte, den CS_2-Titer im Blute des Gesunden bezeichnet. Nachstehende Tabelle 2 soll das Ergebnis unserer Versuche in dieser Hinsicht zeigen. In der letzten Spalte sind die auf CS_2 bezogenen Werte von einer Höhe, wie sie Rodenacker findet. Sie haben jedoch keine Realität, da sie nicht CS_2, sondern H_2S zuzurechnen sind. Damit ist auch gleichzeitig der Nachweis erbracht, daß die Bildung von CS_2 unter den Bedingungen Rodenackers nicht stattfindet. Unter diesem Gesichtspunkt müssen ebenfalls die CS_2 zukommenden Mengen in der Rodenackerschen Veröffentlichung (Internationaler Kongreß für Unfall und Gewerbekrankheiten 1938, S. 1112) beurteilt werden.

Es soll nicht abgeleugnet werden, daß diesen zum Teil extrem hohen Werten (bis 7,3 mg = 7300 γ in 10 ccm) ein gewisser Prozentsatz CS_2 zugerechnet werden kann. Denn es scheint sich bei seinen Kranken um schwere akute Vergiftungsfälle gehandelt zu haben, nachdem er häufig unter der Rubrik der klinischen Erscheinungen Psychosezustände angegeben hat. Über die gleichzeitig angegebenen Mengen gefundenen H_2S können wir keine Aussagen machen, da nähere Angaben über die Bestimmung der kleinen Mengen H_2S nicht gegeben werden, sondern nur die Zahlenwerte veröffentlicht werden.

Wir glauben auf Grund unserer Untersuchungen berechtigt zu sein auszusagen, daß die Bildung von CS_2 aus Normalblut, wie Rodenacker behauptet, nicht bewiesen ist und daß der Nachweis von CS_2 bei der chronischen CS_2-Intoxikation trotz einer sehr empfindlichen Mikro-

Tabelle 2.

Patient	Temperatur	Auf CS_2 berechnet bei Vorlage von $CdCl_2$ mg	Auf CS_2 berechnet ohne Vorlage von $CdCl_2$ mg
M.	120°	0,0003	0,1095
	120	0,0006	0,1374
	140	—	0,1156
W.	140	Blindwert	0,1308
	140	„	0,1532
R.	140	„	0,1140
	140	„	0,1380
M'.	140	„	0,1476
	140	„	0,1385
J.	140	„	0,1217
	140	„	0,1050
	140	—	0,0913
M''.	140	Blindwert	0,2044
	140	„	0,1998

methode wenig Aussicht auf Erfolg bietet. Er kann höchstens von Erfolg sein bei schweren akuten Vergiftungen und auch dann nur, das beweisen unsere Versuche über die Abatmungsgeschwindigkeit, wenn eine Blutabnahme im Betrieb sofort vor Einsetzen der ärztlichen Therapie erfolgen kann.

Literatur.

1) Laudenheimer: Die Schwefelkohlenstoffvergiftung der Gummiarbeiter. Monographie 1899 (Leipzig). — 2) Stadelmann: Über Schwefelkohlenstoffvergiftung. Berl. Klinik 1896. — 3) Raniletti: Arch. Gewerbepath. **2**, 664 (1931). — 4) Baader: Med. Klin. **1932**, S. 1746. — 5) Engelhardt: Sammlung von Vergiftungsfällen **4**, 15. — 6) Rodenacker: Chem. Gewerbekrankheiten, S. 168. Verlag Joh. Amb. Barth, 1940. — 7) Harrower u. F. H. Wiley: J. industr. Hyg. a. Toxicol. **19**, Nr. 9 (Nov. 1937). — 8) Zeise: Poggendorfs Ann. **35**, 487 (1835). — 9) Desains: Ann. chem. phys. (3) **20**, 497 (1847). — 10) Delachanal u. Mermet: Ebenda (5) **12**, 88 (1877). — 11) Lehmann: Arch. Hyg. (D.) **20**, 26 (1894). — 12) Lorant: Z. physiol. Chem. **185**, 245 (1929); Biochem. Z. **228**, 300 (1930). — 13) Freudenberg: Z. physiol. Chem. **263**, 1 (1940). — 14) Freudenberg u. Münch: Ebenda **263**, 13 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über Zeit/Menge-Beziehungen bei der Digitalisauswertung nach Knaffl-Lenz am Meerschweinchen.

Von

Walther Straub*.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 1. Juli 1941.)

Über die zur Erzielung eines sicheren Titers bei obiger Methode optimale Giftkonzentration und über die Zeiten, die zu ihrer Infusion am besten geeignet sind, bestehen nur empirische und gefühlsmäßige Angaben[1]). Die Giftlösungen sollen sehr verdünnt sein und die Infusionszeiten groß. Und doch ist die exakte Beherrschung beider Bedingungen ein wichtiger Faktor des Vorgangs. Während es aber eine Leichtigkeit ist, Menge und Konzentration der Giftlösung zu beherrschen, ist man mit der Variation der Infusionsgeschwindigkeit sehr im Ungewissen. Denn das direkte Einfließen aus einer Bürette in die Vene bringt so unklare Verhältnisse hinsichtlich der Einflußgeschwindigkeit, daß man diese nur annähernd in dauernder Konstanz und Kontrolle halten kann. Erst mit der Benutzung der Präzisionsmotorspritze[2] ist es möglich, auch den nicht belanglosen Faktor der Einflußgeschwindigkeit, der ja mit dem Konzentrationsfaktor bzw. der Endwirkung irgendwie gekuppelt ist, zu beherrschen.

Daß eine optimale Konzentration der einfließenden Lösung bei der Auswertung vorhanden ist, daß der endlich erreichte Titer von den beiden Faktoren Zeit/Menge abhängig sein muß, wurde schon bei unseren ersten Versuchen[3, 4] vermutet. So wurde in der Arbeit W. Straub, Zengo Kanda und Fritz Zinnitz[3] für k-Strophanthin bei einer Konzentration von 1 : 3333 ein Umrechnungsfaktor Meerschweincheneinheiten/Froschdosen von 0,7 gefunden, in der Arbeit M. Reiser[4] bei einer Konzentration von 1 : 10000 ein Koeffizient von 1,0.

Wir haben unsere Versuche immer mit der gleichen Infusionsgeschwindigkeit von durchschnittlich 13,14 ccm/Stunde durchgeführt und variierten andererseits die Konzentration der zu infundierenden Giftlösungen.

---

* Unter Mitarbeit von E. Triendl und J. Bode.

[1] Burn-Bülbring: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin 1937. — [2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937). — [3] Ebenda **194**, 1 (1939). — [4] Ebenda **195**, 199 (1940).

Methodik.

Wir haben, wie in den früheren Arbeiten angegeben[3,4], mit urethanisierten Meerschweinchen gearbeitet, deren Herztätigkeit mit einem Edelmannschen Elektromagnetsaitengalvanometer unter Verwendung von Nadelelektroden unter dauernder Kontrolle stand. Als Endwirkung wurde der Moment des ersten Herzstillstandes genommen. Spätere Ausschläge der Saite, die im Laufe des Absterbevorgangs, vermutlich als Ausdruck der Tätigkeit des ja ohnehin weniger digitalisempfindlichen Vorhofs auftraten, wurden ignoriert.

I. Verodigen.

Verodigen wurde als Vertreter der Purpureaglykoside untersucht. Zur Verwendung kam eine Verodigensubstanz von C. F. Böhringer & Söhne, Mannheim-Waldhof. Da das Verodigen nicht leicht wasserlöslich ist, konnte als konzentrierteste Lösung nur eine Verdünnung von 1 : 500 hergestellt werden, und zwar mit destilliertem Wasser und einer Endkonzentration von 2% Methanol. Diese Lösung opalisiert noch etwas, flockt aber im Laufe des Versuchs nicht aus. Die in arithmetischer Reihe folgenden weiteren Verdünnungen wurden von einer Stammlösung von 1 : 1000 in 1%igem Methanol ausgehend mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Über den Verlauf eines Versuchs, bei dem der erste Punkt der Konzentrationsreihe, nämlich 1 : 500 ermittelt wurde, berichtet am besten die beifolgende Versuchstabelle.

Tabelle 1. Verodigen 1 : 500.
(Froschtiter = 0,0000042 g/g Frosch.)

Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod*	Enthaltend g Verodigen	Tödliche Dosis g Verodigen pro g Meerschweinchen	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
325	0,90	0,00180	0,00000554	4′ 10″	1,32
365	1,05	0,00210	0,00000575	4 10	1,37
325	0,95	0,00190	0,00000585	4 18	1,39
333	0,98	0,00196	0,00000585	4 22	1,39
330	0,85	0,00170	0,00000515	4 03	1,23
410	1,15	0,00230	0,00000561	5 00	1,33
			Mittelwerte:		
348	0,98	0,00196	0,00000563	4′ 29″	1,34

* Die Ziffern sind zwar klein, aber exakt. Die Präzisionsmotorspritze erlaubt solche Messungen.

Zu den einzelnen Stäben noch folgende Erklärung: Stab 1 ist selbstverständlich. Stab 2 bedeutet die durch Ablesen des Spritzenstempels errechneten ccm der jeweiligen verbrauchten Lösung. Die Werte variieren

natürlich proportional mit dem Gewicht der Tiere. Stab 3 bedeutet die absoluten Mengen Verodigen, die in dem nebenstehenden Volumen enthalten sind. Stab 4 ist die Relation g Substanz zu g Tiergewicht, oder auch der Titer der Substanz in g. Stab 5 ist die Zeitdauer der Infusion bis zur Endreaktion am Tier in Minuten. Stab 6 enthält den Umrechnungsfaktor, um dessentwillen die ganze Untersuchungsreihe angestellt wurde. Dieser bezweckt einen allgemein gültigen Faktor zu finden, mit dessen Hilfe man von gefundenem Meerschweinchentiter auf gesuchten Froschtiter umrechnen kann. Die Auswertung am Frosch ist bekanntlich sehr saisongebunden, die am Meerschweinchen gar nicht. Der Mittelwert der ganzen Reihe heißt also, daß bei einem Tier von 348 g durch 0,98 ccm einer Verodigenlösung 1 : 500 = 0,001 96 g Verodigen bei einer Infusionsgeschwindigkeit von 13,12 ccm/Stunde der systolische Herzstillstand in 4 Min. 29 Sek. eintritt. Rechnet man auf 1000 g Tier, so ergibt sich eine Zeit von 12 Min. 52 Sek. und ein Titer von 5,63 mg. Nach diesen Überlegungen ist die graphische Darstellung Abb. 1/I ermittelt.

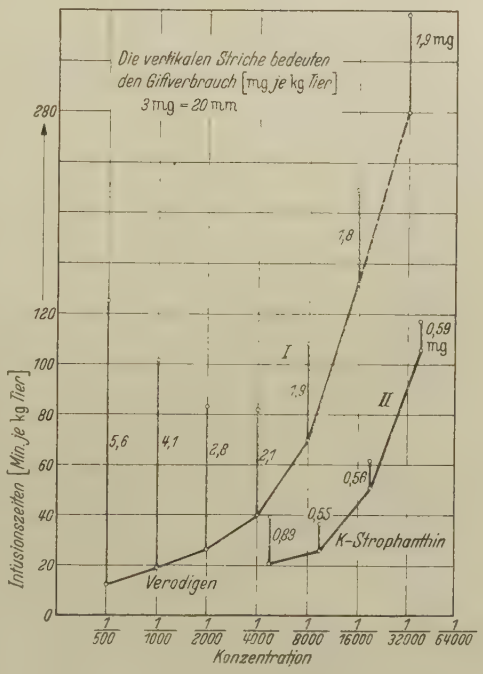


Abb. 1.

Der gleichzeitig festgestellte Verodigentiter am Frosch nach der zeitlosen Methode ist 0,0000042 g/g. Da der Zweck der Auswertung mit der Meerschweinchenmethode der ist, mit Hilfe eines Koeffizienten sich an die üblichen Froschwerte anzugliedern, ergibt sich für die Verdünnung von 1 : 500 ein Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter von 1,34. Die Variationen in der Reihe wurden so vorgenommen, daß die einfließende Verodigenlösung in arithmetischer Reihe verdünnt wurde bis zu dem Verdünnungsgrad 1 : 32000, und der jeweilige Verbrauch an Substanz und die Zeit festgestellt wurden. Es wurden so 7 Punkte ermittelt. Die Zeit/Verdünnung/Beziehung ist die, daß je größer die Verdünnung, desto später der Moment des Herztodes. Z. B. bei der Verdünnung von 1 : 32000 wird der Herzstillstand erst nach 80 Minuten erreicht.

A priori sollte man annehmen, daß der ermittelte Verbrauch von Gift unabhängig von der Konzentration und für jede Konzentration der gleiche sein müßte, daß also Herz und Tier tot sind, wenn aus irgendeiner Konzen-

Tabelle 2.

Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher Verodigenversuche.
(Froschtiter = 0,000 004 2 g/g Frosch.)

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g Verodigen	Tödliche Dosis g Verodigen pro g Meerschweinchen	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1: 500	348	0,980	0,001 960	**0,000 005 63**	4' 29''	1,340
2	1: 1000	328	1,353	0,001 353	**0,000 004 13**	6 8	0,983
3	1: 2000	313	1,779	0,000 889	**0,000 002 84**	8 17	0,676
4	1: 4000	322	2,725	0,000 681	**0,000 002 12**	12 41	0,505
5	1: 8000	284	4,300	0,000 537	**0,000 001 88**	19 54	0,447
6	1:16000	313	9,230	0,000 577	**0,000 001 84**	41 11	0,438
7	1:32000	289	17,620	0,000 551	**0,000 001 90**	80 42	0,453

tration die effektive Giftdosis Verodigen aufgenommen ist. Wie aber die Versuche zeigen, gilt das nur für den Bereich der Kurve von 1 : 8000 bis 1 : 32000. Hier bleibt der Titer oder Giftverbrauch von 0,000 001 8 g/g konstant und nur die Zeit variiert mit der Konzentration. Bei steigenden Konzentrationen nimmt der Titer oder Giftverbrauch aber unverhältnismäßig stark zu, so daß er z. B. bei der Konzentration 1 : 500 auf 0,000 005 63 g/g gestiegen ist. Die höheren Konzentrationen als 1 : 8000 haben also nach unseren Versuchsbedingungen jede ihren eigenen Titer.

Man kann nun unmöglich annehmen daß das an einer höheren Konzentration bei geringerem Zeitaufwand sterbende Herz zu seiner Todesreaktion mehr Verodigen verbraucht, als das im entgegengesetzten Grenzfall stehende. Man muß vielmehr annehmen, daß die effektive Todesdosis für alle Konzentrationen die gleiche ist, wie schon oben bemerkt. Danach können auf unserer Kurve Abb. 1[1] die höheren Konzentrationen als 1 : 8000 unmöglich die Effektivdosen sein, vielmehr wird die Effektivdosis da liegen, wo sie unabhängig von der Konzentration konstant und niedrigst wird, also mit 0,000 001 8 g/g von der Konzentration 1 : 8000 bis 1 : 32000. Die theoretische Folgerung ist aber die, daß auch noch andere Gift- und Vergiftung-konsumierende Faktoren während der Verodigenwirkung mitspielen. Man könnte daran denken, daß ja nach Weese[5] ein Giftkonsum auch in allen anderen Organen stattfindet. Man könnte auch daran denken, daß sich die Adsorptionsphase gegen die Wirkungsphase dadurch geltend macht, daß sie gewissermaßen einen Überschuß von Gift aus höherer Konzentration abpuffert, also eine Art von Überschußbindung vorliegt. Das Herz ist überladen mit Verodigen, während aus den Grenzkonzentrationen in längeren Infusionszeiten nur die Mengen Verodigen aufgenommen werden, die für die Wirkungsphase maßgebend sind, also die Effektivdosis.

Die praktische Folgerung ist die, daß man bei der Auswertung nach Knaffl-Lenz für Verodigen erst von der Verdünnung von 1 : 8000 an

[5] Weese, H.: Digitalis Monographie, Leipzig 1936, S. 135.

einen richtigen Titer erwarten kann. Man wird in praxi etwa auf 1 : 10000 verdünnen und das Einfließen in 20–30 Minuten pro Tier vor sich gehen lassen. Die noch größeren Verdünnungen führen, wie die Kurve Abb. 1/I zeigt, wohl auch zu einem richtigen Titer, verlangen aber schon soviel Infusionsflüssigkeit, daß man sie schwer im Tier unterbringen kann. Bei der Auswertung nach Knaffl-Lenz sind also Giftkonzentrationen und Dauer des Einfließens wohldefinierte Werte, die keineswegs gefühlsmäßig behandelt werden dürfen.

Eine weitere Frage ist die, ob während der Infusion eine merkliche Ausscheidung oder Zerstörung des Giftes stattfindet. Dies ist innerhalb des Bereichs der Messung nicht wahrscheinlich, da ja der Titer ab 1 : 8000 konstant bleibt, und zwar von 70 Minuten/kg bis 280 Minuten/kg sich nicht verändert. Innerhalb dieser Zeit macht sich also kein der Messung entgegengesetzt gerichteter Faktor der Ausscheidung, der extracardialen Zerstörung, bemerkbar. Auch die mittlere Streuung bleibt bei allen Konzentrationen dieselbe. Dabei soll nicht geleugnet werden, daß ein solcher vielleicht jenseits der Verdünnung von 1 : 32000 und der dazu gehörigen Zeit von 280 Min./kg auftreten kann und die Ermittlung eines Titers stört. Aber in dem praktischen Meßbereich kommt es nicht dazu.

Es ist zu bemerken, daß die Kurve 1/I den ganzen möglichen Meßbereich umfaßt. Denn jenseits von 1 : 500 sind Lösungen nicht mehr herstellbar, und diesseits von 1 : 32000 die Infusion nicht mehr durchführbar.

II. k-Strophanthin.

Es wurde das k-Strophanthin von C. F. Böhringer & Söhne, Mannheim-Waldhof, das uns in Substanz zu Gebote stand, untersucht. Die Auswertungen fanden nach den am Verodigen ermittelten Gesichtspunkten statt. Einzelheiten über die Strophanthinauswertung wollen aus der Tabelle 3 ersehen werden.

Tabelle 3. Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher k-Strophanthinversuche.

(Froschtiter = 0,00000057 g/g Frosch.)

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g k-Strophanthin	Tödliche Dosis g k-Strophanthin pro g Meerschweinchen	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1: 5000	313	1,397	0,000280	**0,000000894**	6′ 32″	1,568
2	1:10000	423	2,332	0,000233	**0,000000551**	11 28	0,967
3	1:20000	346	3,905	0,000195	**0,000000564**	17 37	0,990
4	1:40000	310	7,291	0,000183	**0,000000589**	32 52	1,030

Der Vergleich mit Verodigen Abb. 1/I ergibt, daß die Punkte gleicher Konzentration in allen Ordinatenwerten (Zeit) weit unter den Verodigenwerten liegen. k-Strophanthin 1 : 10000 benötigt z. B. 27 Minuten/kg Tier

gegen 85 Minuten/kg Tier beim Verodigen, k-Strophanthin 1 : 20000 51 Minuten/kg Tier gegen Verodigen 165 Minuten/kg. Das Strophanthin wirkt also auch nach unseren Bedingungen beträchtlich rascher als die Purpureaglykoside, was ja zum allgemeinen Wirkungscharakter des k-Strophanthins paßt.

Hinsichtlich des Verbrauchs verhält sich Strophanthin wesentlich günstiger als das Verodigen. Allerdings kommt auch beim Strophanthin die Erscheinung zum Ausdruck, daß aus höheren Konzentrationen mehr verbraucht wird zur Herbeiführung des Herzstillstandes. Aber dieser Überschußverbrauch ist für Strophanthin in absoluten Werten gegenüber dem Verodigen sehr gering. Z. B. ist bei unserem Grenzwert 1 : 5000 der Strophanthintiter 0,000000894 g/g, erreicht aber schon bei der nächstgeprüften Konzentration von 1 : 10000 das konstante Maximum von 0,000000551 g/g (Abb. 1/II).

III. Digilanid.

Als Vertreter der Digitalis lanata-Glycoside wurde das Digilanid gewählt. Dieses stand uns in Substanz nicht zur Verfügung. Wir verwendeten daher das Ampullenmaterial des Handels, das in einer Konzentration von 1 : 5000 vorliegt. Die interessanteren höheren Konzentrationen konnten infolgedessen nicht untersucht werden. Wie die Tabelle 4 zeigt, ergab sich für die Konzentration von 1 : 5000 und 1 : 10000 ungefähr der gleiche Wirkungswert.

Tabelle 4. Generaltabelle der Mittelwerte von Lanadigenversuchen. (Froschtiter = 0,000002 91 g/g Frosch.)

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g Lanadigen	Tödliche Dosis g Lanadigen pro g Meerschweinchen	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1: 5000	293	2,04	0,00041	**0,000001399**	9' 02''	0,480
2	1:10000	286	3,70	0,00037	**0,000001295**	16 28	0,445

Zusammenfassung.

1. Die Zeit/Menge-Beziehungen bei der Infusion von Digitalisglykosiden am Meerschweinchen werden exakter festgelegt.

2. Bei einer durchschnittlichen Infusionsgeschwindigkeit von 13,14 ccm pro Stunde erwies sich für die Substanzen Verodigen, k-Strophanthin und Lanadigen die Konzentration von 1 : 10000 als geeignet für die Ermittlung des richtigen Titers und Umrechnungsfaktors.

3. Höhere Konzentrationen als 1 : 10000 ergeben durch Überschußverbrauch des Giftes im Tier falsche Werte.

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. med. Werner Kollath.)

Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung.

15. Mitteilung: Bedeutung der Wuchsstoffe in Mehl und Brot.

Von

Werner Kollath und Emmy Thierfelder.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juli 1941.)

In der 14. Mitteilung dieser Arbeitenfolge wurde eine neue Gruppe von Mangelkrankheiten beschrieben, die durch das Fehlen von Wuchsstoffen gekennzeichnet ist. Fehlen diese Wuchsstoffe, so werden die fettlöslichen Vitamine wirkungslos. Sie sind alle irgendwo beim Aufbau der Gewebe beteiligt. Ist dann aber allein das Vitamin B_1 anwesend in Gegenwart von Kaliumphosphat, dann kann das Leben sehr lange erhalten bleiben, ohne daß Mangelkrankheiten des üblichen reversiblen, heilbaren Typs entstehen. Der tierische Körper besitzt dann die Möglichkeit, durch eigene Leistungen die wesentlichsten physiologischen Vorgänge zu erhalten, doch treten nach langen Zeiten dieser einseitigen Ernährung irreversible Mangelkrankheiten auf: Arteriosklerose, Schrumpfniere, Lungenemphysem, Sarkome, Katarakt, Caries usw. Für diese Stoffwechsellage wurde die Bezeichnung „Mesotrophie" vorgeschlagen.

Da diese Störungen irreversibel sind, ist die ärztliche Bedeutung darin gelegen, daß alles auf die Vorbeugung, also auf die Hygiene ankommt. Die Verteilung der Wuchsstoffe in unserer Nahrung, deren Anwesenheit allein die Entstehung der mesotrophischen Veränderungen zu verhüten vermag, ist deshalb zu erforschen. Liegt es doch nahe anzunehmen, daß manche Unklarheiten, die durch die Vitaminforschung bisher nicht erklärt werden konnten, durch die Berücksichtigung der Wuchsstoffe erklärt werden können.

Zur physiologischen Bedeutung der Mesotrophie.

Die Möglichkeit, ein unvollkommenes Leben mit einem einzigen Vitamin zu führen, erfordert einerseits die Untersuchung, auf welche Weise der Körper seinen bisher als notwendig angesehenen Vitaminbedarf deckt. Es besteht die Möglichkeit, daß er die fehlenden Vitamine synthetisiert, oder überhaupt ohne sie auskommt, oder andersartige Ersatzstoffe bildet. Diese Fragen sollen später geklärt werden.

Der vielfach gemachte Einwand, daß der Erwachsene keine Wuchsstoffe brauche, ist folgendermaßen zu beantworten:

Es handelt sich eigentlich nur um Zellteilungsstoffe. Diese führen im jugendlichen Organismus zum Wachstum, im geschlechtsreifen zur Gewichtskonstanz infolge dauernden Ersatzes durch Neubau, der dem Verbrauch entspricht; im Alter aber nimmt der Verbrauch zu und nun läßt die zur Verjüngung der Gewebe beitragende „Zellmauserung" nach. Das Alter kann demnach hinausgeschoben werden, wenn die Zellmauserung durch Wuchsstoffe gefördert wird, und andererseits ein Reiz zur Zellneubildung durch lebhaften Stoffwechsel ausgeübt wird. Die Bezeichnung „Wuchsstoffe" wird der Kürze halber gewählt, bis die chemischen Stoffe identifiziert sein werden.

Verteilung der Wuchsstoffe in der Nahrung.

Es wurde früher beschrieben, daß die Wuchsstoffe in Fleisch, Feinmehl, Zucker und tierischen Fetten fehlen. Sie sind aber vorhanden in Getreidekeimen und in Hefe. Es lag nahe, die ersten Versuche über ihre Verbreitung bei den verschiedenen Brotsorten anzustellen. Folgende Fragestellungen wurden aufgeworfen:

1. Da die Wuchsstoffe bei Temperaturen über 160° C zerstört werden, mußte der Einfluß der Backtemperaturen geprüft werden. Diese betragen meist 235° C. Im Innern des Brotes werden diese Temperaturen nie erreicht, sondern hier ist die Höchstgrenze durch die Dampfspannung gegeben, d. h. sie kann höchstens 100° C betragen. Die äußeren Schichten und trockenes Gebäck aber vermögen stärker erhitzt zu werden. M. P. Neumann gibt an, daß in den äußeren Schichten die Temperatur beim Backen über 200° betragen kann. Die Fladenbrote, Knäckebrote, sind vielleicht ungünstiger gestellt als man denkt.

2. Es mußte die Frage geprüft werden, ob Hefe beim Gärungsvorgang im Teig Wuchsstoffe bildet.

Die Beantwortung dieser Frage hängt aufs engste mit dem Problem der Keimentfernung durch die seit 100 Jahren ausgebildete Müllereitechnik zusammen. Einst wurde Brot nur aus frisch geschrotetem Material hergestellt. Müllerei und Bäckerei lagen in einer Hand, oder befanden sich räumlich nahe zusammen. Der Bauer ließ sich seinen Bedarf mahlen. Mehl bzw. Schrot war keine Dauerware, sondern Korn. Dem entsprach z. B. auch, daß Korn einst zu den Beamtengehältern gehörte. Heute ist es praktisch unmöglich, daß sich der Privatmann ein Pfund Korn kaufen kann. Er ist in allem auf die Mahlprodukte des Handels angewiesen.

Unter der Wirkung der Maschinenmüllerei, der immer mehr verfeinerten Mühlen entstand das Kunstprodukt „Feinmehl"*, dessen immer größere Verfeinerung dem beruflichen Ideal der Müller entsprach.

* In dieser Arbeit werden die handelsüblichen Typenbezeichnungen des Mehles verwendet. Es bedeutet:
Type 812: Weizenfeinmehl; Type 1700: Weizenvollkornmehl;
Type 997: Roggenfeinmehl; Type 1800: Roggenvollkornmehl.

Auf diese Weise wurde das Korn nun nur zu 60—75% ausgemahlen. Der ganze Rest ging als „Kleie" verloren und fand in der Tierfütterung Verwendung. 80% des Kleie-Eiweißes gehen dabei für den Menschen verloren (Ziegelmeyer).

Als schädlicher Faktor im Vollmehl erwies sich die „Keimbeimengung". Der hohe Fermentgehalt des Keimes, insbesondere sein Lipasen- und Peroxydasengehalt waren Ursache der zur Ranzigkeit führenden Fettzersetzung. „Das Mehl mit seiner großen Oberfläche und mit seiner komplizierten Zusammensetzung bietet ein sehr geeignetes Objekt für den Ablauf verschiedener chemischer Reaktionen, die zum Verlust wertvoller Nahrungsbestandteile führen. Die geringe Haltbarkeit der dunklen Mehle gehört mit zu den Faktoren, welche die Verbreitung des Weißbrotes indirekt unterstützen. Ein intensives Studium einer Erhöhung der Lagerfähigkeit der dunklen Mehle erscheint besonders wichtig" (Abelin). Das entspricht der Angabe von M. P. Neumann (S. 305), daß Roggenmehle weniger haltbar waren als Weizenmehle, gröbere weniger haltbar als feinere. „Demnach erwies sich schließlich das feinste Weizenmehl als das haltbarste." Darin haben wir wohl den wichtigsten industriellen Grund der Bevorzugung des Weizenbrotes zu suchen, weil die Mühlenindustrie mit diesem Feinmehl die größte Vorratswirtschaft treiben konnte — zu Lasten der Volksgesundheit. Die verhältnismäßig leichte Propaganda (Geschmack usw.) ermöglichte dann die Umstellung der Bevölkerung auf das Weißbrot. Die einseitig aufgefaßte Kalorienlehre hatte bei diesem Bestreben Hilfsstellung geleistet, insofern sie die Möglichkeit, daß in der Kleie andere, wirksame und notwendige Stoffe sein könnten, nicht beachtete.

3. Kann Hefe durch Backpulver ersetzt werden? Neben der Beseitigung des Keimes aber fand ein weitgehender Übergang zum Backpulver statt. Das hatte folgende Ursachen:

Wiederum war es die Kalorienlehre, deren einseitige Auslegung hier richtungweisend wurde. Nach M. P. Neumann (S. 404) war es der Gärverlust durch Hefe, den man vermeiden wollte; denn man berechnete, daß 1,5—2% — andere Autoren (Schulerud) geben bis zu 4% an — der Kohlehydrate des Mehles durch die Hefegärung „verloren" gehen. Schulerud empfiehlt zur Vermeidung des Gärverlustes „kurze Führungen der Teige" (S. 121), oder „hefefreie Vorteige". Dann muß man aber ein Vielfaches an Hefe verwenden, die das Ganze verteuern.

M. P. Neumann sagt dazu: „Aber der Weg, auf dem die Erhaltung dieser Werte erstrebt wurde, ist denn doch ein grober Irrweg. Es wäre eine eigenartige Volkswirtschaft, den Vorrat an Brotmaterial (durch Ausschaltung des Gärverlustes) um den Wert von 45 Millionen Mark zu erhöhen, den Brotpreis aber um viele Millionen Mark mehr zu belasten. Denn, wenn auch nicht daran gedacht werden kann, die heute geltenden Preise für Backpulver (10 Rpf. pro $^1/_2$ kg Mehl) in die Berechnung einzustellen, so würden doch die für die Teiglockerung notwendigen Chemikalien viel mehr Kosten verursachen, als die vergorene Substanz wert ist . . ." „Und dann die ‚hygienische' Seite der Frage: Mit der Hefe wird dem Gebäck ein wertvoller Nährstoff zugeführt: Eiweiß . . . Auf keinen Fall wird ihr Vorkommen in der Backware einen Nachteil bedeuten."

Man sieht, daß diese Beurteilung der Backpulver aus der Zeit vor der Vitaminforschung stammt, und daß eine erneute kritische Betrachtung auf experimentellem Wege erforderlich ist.

Heute kennen wir einen Teil der Schäden, die diese einseitige Technik für die Brotherstellung hervorgerufen hat. Zahlreiche Versuche sind unternommen, um die langsam erkannten Fehler zu vermeiden bzw. durch weitere Maßnahmen so auszugleichen, daß die nun einmal zur Norm

gewordene Müllerei- und Backtechnik beibehalten wurde. Will man das Ergebnis zusammenfassen, so kann man sagen: nicht ein einziges Verfahren hat sich durchzusetzen vermocht. Es ist anzustreben: zurückzukehren zu dem vollen Korn und das frische Mahlprodukt zu verbacken. Daher die heutige Vollkornbrot-Bewegung.

Die Deutsche Arbeitsfront hat eine Schrift über das Vollkornbrot herausgegeben, in der sich der Satz findet: „Eine möglichst frische Verarbeitung von Vollkornschrot ist jedoch das beste Vorbeugungsmittel gegen alle enzymatischen Abbautätigkeiten."

Obwohl nun kein Zweifel daran sein kann, daß das Vollkornbrot sicher besser ist als das verfeinerte Weißbrot, ist es sonderbarerweise doch noch nicht gelungen, in eindeutiger Weise einen Beweis dafür zu führen.

Auf Grund seiner Versuche kommt Abelin zu dem Urteil, daß „eine höhere Ausmahlung der Getreidefrucht, sogar bis auf 100%, keine zuverlässige Garantie für einen genügenden Vitamingehalt und einen höheren Nährwert des daraus hergestellten Brotes bieten." „Vielfach enthalten die dunklen Brote (Vollkornbrote) nicht die vermuteten höheren Vitaminmengen; ihr physiologischer Effekt ist ebenfalls sehr schwankend und im Tierversuch oftmals unbefriedigend." Infolgedessen vertritt er den Standpunkt, „daß beim Brotproblem die Nebenkost den entscheidenden Faktor darstellt." Das ist aber eine gefährliche Ansicht, da sie geeignet ist, die Ernährungsgrundlage Europas zu erschüttern. Sie steht auch einer Reformation vorhandener Fehler entgegen.

Hier war nun die Gelegenheit gegeben, die Wuchsstoffwirkung im Brot zu untersuchen, um den Versuch zu machen, auf diesem Wege eine brauchbare Wertskala zu schaffen. Denn es konnte doch so liegen, daß man bisher die wichtige Eigenschaft des Getreidekeims, Lieferant der Wuchsstoffe zu sein, in den Versuchen überhaupt nicht berücksichtigt hat, und deshalb die Beweise für die Überlegenheit des Vollkorns fehlten. Vitamin- und Mineralgehalt, Kaloriengehalt usw. kann man auch mit anderen Dingen sichern, Wuchsstoffe bei weitem am besten nur mit den Getreidekeimen bzw. deren Verwendung im Gebäck oder Brei, oder mit Hefe.

4. Schließlich war noch die Frage zu prüfen, ob nicht der Übergang zum Brot, also zum Backprodukt als solchem, eine entscheidende Wendung zu größeren Gesundheitsgefahren bedeutet und ob nicht der „Brei" oder die „Grütze", also wässerige, leicht verderbliche Lebensmittel, eine weit größere Gesundheitssicherung herbeiführen als die „Brotkonserve". Denn das ist nun einmal sicher: Brot hat deshalb den großen Vorrang in unserer Ernährung gewonnen, weil es sich in einmaligem Arbeitsgang für längere Zeit herstellen läßt und als Konserve benutzt werden kann. Daß die Haltbarkeit begrenzt ist, ist ein

gewisser Mangel, nimmt ihm aber nicht den Konservencharakter, macht es vielmehr zu einer bedingt haltbaren Konserve.

Diese Frage rührt an Grundfragen unseres ganzen Wirtschaftslebens. Sie kann nur beantwortet werden, wenn quantitative Bewertungen möglich sind. Abelin fand z. B., daß die so hochgeschätzten Knäckebrote, sowie Zwiebackarten biologisch weniger leistungsfähig als die feuchten Brote gewesen sind. Er vermutet eine „Hitzeschädigung gewisser lebenswichtiger Stoffe beim Trocknen solcher Brote". Er hat umfassende Brotfütterungen gemacht und unterscheidet zwei Vorschlagsgruppen zur Brotfrage:

1. Eine Brotverbesserung auf Grund rationeller Verwertung der Einzelbestandteile der Brotfrucht.
2. Eine Hebung der Nährkraft des Brotes durch den gleichzeitigen Genuß anderer, ergänzungsfähiger Nahrungsmittel.

Nach meiner Ansicht ist die entscheidende Frage in der Brotforschung deshalb bisher ungelöst geblieben, weil man zwar Brote untereinander verglichen hat, nicht aber die einzelnen Stufen der Brotbereitung vergleichend untersuchte. Es kommt nun darauf an, festzustellen, ob auf dem Wege vom Vollkorn bis zum endgültigen Brot an irgendeiner Stelle wichtige Eigenschaften des Kornes verloren gehen bzw. an welcher Stelle das geschieht. Von der Bedeutung des Keimverlustes wissen wir etwas, ebenso über Schäden in der Aufbewahrungszeit. Das eigentliche Verfahren der Broterhitzung usw. ist aber bezüglich dieser Schädigungsmöglichkeiten noch nicht durchgeprüft. Wenn man bisher also gewissermaßen nur Querschnitte geführt hat, so muß man auch Längsschnitte durch die Entwicklungsgänge machen.

Das Brotproblem ist als nicht gelöst zu betrachten, und deshalb wurde es notwendig, es auf Grund der Wuchsstoffwirkungen erneut zu prüfen.

Die Bewertungsmethode.

Versuch Nr. 65.

Will man die Wuchsstoffwirkung bewerten, so muß man die Steilheit der Gewichtskurve als Maßstab nehmen. Es hat sich bewährt, daß man dazu folgendermaßen verfährt: Die Gewichte werden in eine quadratische Einteilung eingetragen, in der die horizontale Linie die Wochen, die senkrechte je 10 g wiedergeben.

Entspricht nun je 1 Woche je 10 g in der Kurve, dann ergibt sich ein Anstiegs- oder „Wachstumswinkel", dessen Steilheit gemessen werden kann. Dann werden wir die verschiedenen Versuchsresultate am besten mit dem bestmöglichen Wachstum vergleichen. Eine derartige Kurve finden wir in Abb. 1. Die steil ansteigenden Kurven enthalten die Werte von Abelin. Die Ratten Nr. 2745—2747 zeigen unsere besten Gewichtszunahmen. Als Vollkost wurde gegeben: Vollmilch, Semmel, dreimal

wöchentlich Gemüse. Abelins Werte sind Durchschnittswerte für Frühling und Herbst bei gleicher Kost.

Mißt man mit dem Winkelmesser den Anstieg, so ergibt sich ein Wachstumswinkel von 60°.

Versuch Nr. 66a.

Vergleich zwischen Frischmehl und dem daraus gebackenen Brot.

In Abb. 2 sehen wir den gleichmäßigen Gewichtsanstieg, wenn zur Grundkost X* täglich nur 2 g Weizenfrischmehl, Type 1700, zugelegt werden. Der Wachstumswinkel erreicht 50°, die Diät X* wird bereits durch 2 g Type 1700 komplettiert.

In Abb. 3 und 4 sehen wir, wie 2 und 4 g bzw. 8 g der Krume des aus Type 1700 hergestellten Brotes wirken.

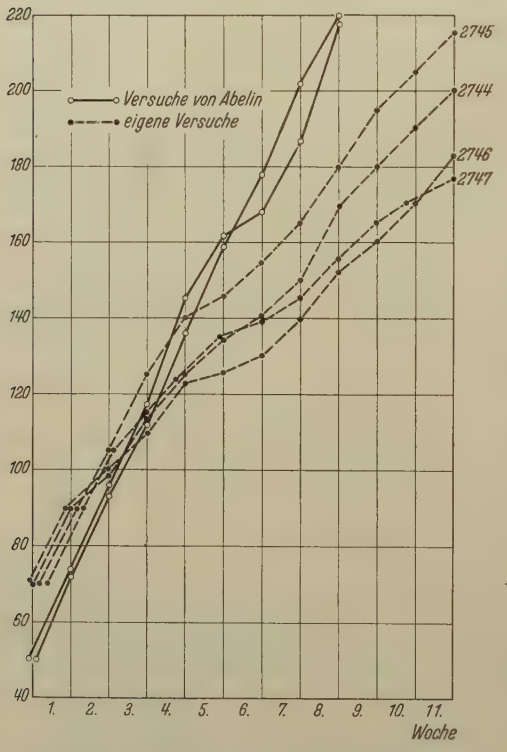


Abb. 1. Normale optimale Wachstumskurven. Vollmilch, Semmel, 3× wöchentlich Gemüse.

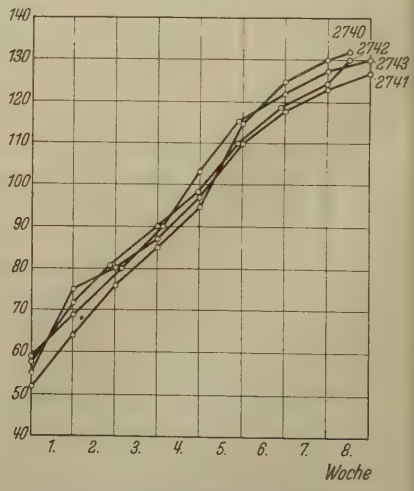


Abb. 2. Type 1700 (Weizen-Vollmehl). Diät X, + 2 g Frischmehl, aufbewahrt im Exsiccator.

---

* Die Diät X setzt sich zusammen aus: Casein 20 Teile, Reisstärke 60 Teile, Rüböl 10 Teile, Salzgemisch Mc Collum Nr. 185 5 Teile. Tägliche Zulagen: etwa $^1/_2$ g Talg, 3 Tropfen Lebertran, ferner Zellstoff. Alle Bestandteile sind gereinigt, der Zellstoff sterilisiert.

Die hier wiedergegebenen Versuche sind mit gleichem Resultat bis zu viermal wiederholt.

2 g ergeben einen Wachstumswinkel von etwa 30°. 4 g von etwa 40°, 8 g von 60°.

Dieser wichtige Versuch besagt, daß 2 g Vollmehl. im Exsikkator vor Oxydationsverlusten geschützt. eine biologische Wuchsstoffwirkung hat wie 6 g des daraus hergestellten Vollkornbrotes (Abb. 5).

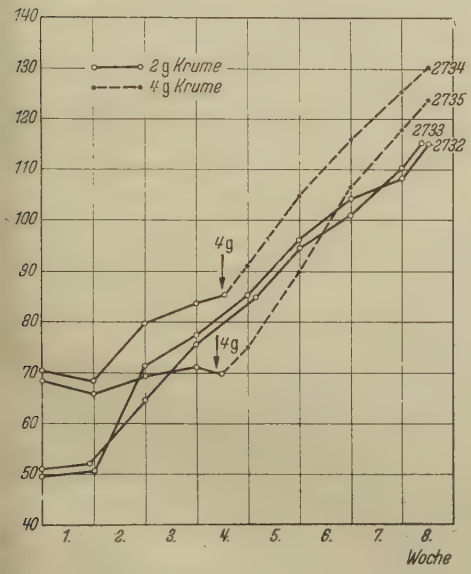


Abb. 3. Diät X. Brot aus Frischmehl, Type 1700 (Weizen).

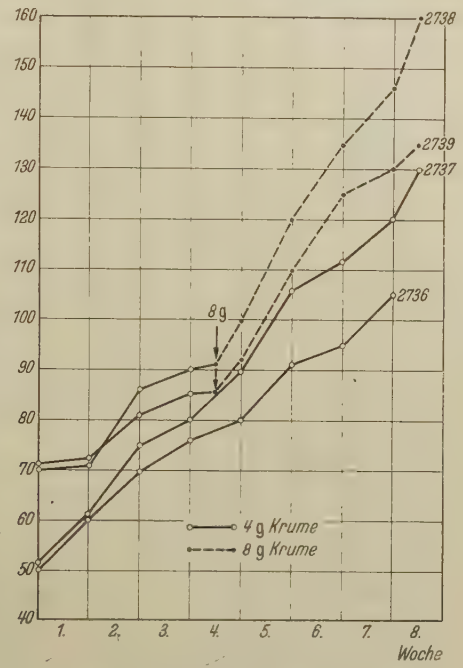


Abb. 4. Diät X. Frischmehl, Type 1700 (frisches Weizenschrot).

Es handelt sich aber wahrscheinlich nicht um eine Qualitätsänderung, sondern nur um eine quantitative Herabsetzung der Wuchsstoffe, da 8 g Krume wieder stärker wirken als 2 g Mehl. Da nun bei der Brotherstellung aus 100 kg Teig 130 kg Brot werden, kann es sich nicht nur um eine „Verdünnung" der Wuchsstoffe handeln, sondern es muß eine recht erhebliche Verminderung der Wuchsstoffe bei dem Herstellungsprozeß unvermeidlich eintreten. Im Rahmen dieser offenbar nicht zu ver-

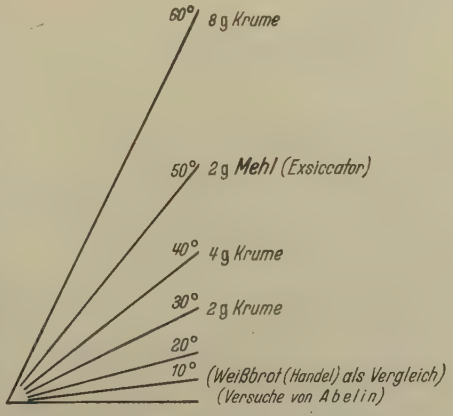


Abb. 5. Wachstumswirkung von Weizen-Vollkorn, Type 1700. Das Brot wurde sofort nach Mahlen verbacken. Grundkost: Diät X.

hindernden Herabsetzung der Wuchsstoffe ist aber Vollkornbrot durchaus vollwertig als Grundlage einer allgemeinen Ernährung. Allerdings: um höchste biologische Reaktionen zu erzielen, ist die Vervollkommnung notwendig. Wie das möglich ist, ist zu untersuchen.

Es ergab sich ferner:

Versuch Nr. 66b.

Legt man den Ratten stets die gleiche Menge von 2 g Brot zur Diät X zu, dann kommt es langsam, etwa von 120 g Gewicht an, zu einer Abflachung des Wachstumswinkels. Zulage von Brot führt wieder zur Steigerung. Es scheint, als ob für je 50 g Ratte etwa 2 g Brot das Optimum der Leistung darstellen. Man wird also bei einem Gewicht über 150 g 8 g Brot geben müssen. Von einer Veröffentlichung der Gewichtskurven wird abgesehen.

Vergleich mit Abelins Versuchen.

Es läßt sich leicht erkennen, daß diese Frisch-Vollbrote wesentlich wachstumsfördernder sind als die von Abelin geprüften Handelsbrote.

Trägt man seine Durchschnittswerte für „Weißbrot", „gewöhnliches Brot", „Vollkornbrot", „Brote mit Trockenmilchpulver-Zulage", sowie von „Zugaben von Vitamin A" (Haliverol) und „Marmite" in dies Schema ein, dann sieht man, daß alle diese Brote — unter Abelins Versuchsbedingungen — nur einen Wachstumswinkel von 10—20° haben. Erst wenn täglich 2 g Hefe zugegeben werden, erfolgt steileres Wachstum. Interessant ist, daß z. B. Spinatzulage kein Wachstum herbeiführte! Hier in den reinen Blättern fehlen die Wuchsstoffe also wohl. (Vom Salat ist das gleiche zu erwarten.) Wachstum und Fruchtbarkeit sind nur durch gemeinsame Zugabe von Hefe mit Vitaminen bzw. Gemüsen zu erzeugen.

Die Handelsbrote sind also darin weit unterlegen.

Abelin schließt daraus, wie wir sehen, mit Recht, „daß der Hauptnachteil der Brote aus fein oder grob gemahlenen Mehlsorten nicht allein im Vitaminmangel liegt," „... rohe Vegetabilien sind nicht nur Vitamin- bzw. Mineralsalzträger, sondern vermitteln darüber hinaus scheinbar die Versorgung mit anderen wichtigen Nährstoffen." — Hier handelt es sich also um die bisher unbeachteten thermostabilen Wuchsstoffe, nicht um „Eiweiß".

Versuch Nr. 67.

Die Unvollkommenheit des Knäckebrotes.

Besonders interessant ist nun die Prüfung des Knäckebrotes.

Kraft sieht in der Rückkehr zum Fladenbrot die beste Lösung. In seiner Schrift: „Wahrheiten über das Brot" sagt Kraft über die Herstellung dieses Brotes:

„Das gründlich gereinigte Korn wird in eigener Mühle 100%ig vermahlen, ob ganz grob oder weniger grob, ist unwichtig —, wichtig ist die gute Kühlung." Das Mehl wird sofort nach Vermahlung eingeteigt. Dies Einteigen geschieht mit etwa 125% Wasser (80% beim Laibteig), mit $1\frac{1}{2}$% Hefe bei 31° und 30 Minuten Rührzeit oder ohne Hefe unter Eiskühlung und 80 Minuten Rührzeit, je nach Sorte. Gleichmäßig dicke Fladen von 4—8 mm werden geformt.

Das Backen erfolgt bei mittleren Backtemperaturen in kurzer Zeit, dann wird bei tieferen Temperaturen mehrstündig getrocknet (briefliche Mitteilung).

In unseren Versuchen Abb. 6 gaben wir täglich 2 g Krafts Knäckebrot, Sorte D und H. Knäckebrot D, das dünnere, zeigt einen Gewichtsanstieg von etwa 20°, die dickere Sorte H hingegen von 40°. Die Unterlegenheit ergibt sich am deutlichsten, als nach der 12. Woche frische

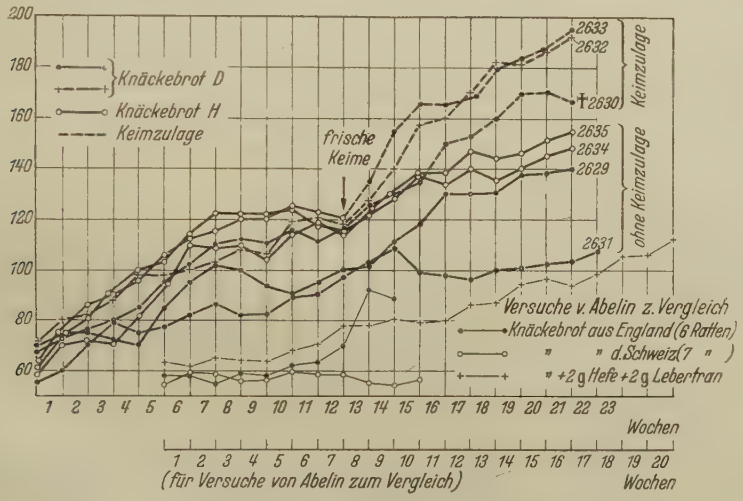


Abb. 6.

Keime zugegeben werden. Nun erfolgt ein Anstieg auf 60°. (Bei den älteren Tieren tritt später ohne erhöhte Brotzugabe eine Abflachung der Kurve ein (s. Versuch 66a.)

In dieser Kurve habe ich unten auch die Werte von Abelins Knäckebrotversuchen eingetragen. Aus räumlichen Rücksichten beginnen diese Kurven in der 5. Woche der Hauptkurve mit neuer Zählung. Knäckebrote aus der Schweiz und aus England sind von Abelin geprüft. Das Ergebnis ist schlecht für die Brote: Die Gewichtskurven sind fast horizontal. Nur dort, wo Hefe und Lebertran zugelegt worden sind, erfolgt ein geringer Gewichtsanstieg. (Es handelt sich um Durchschnittswerte aus 6—7 Ratten.)

Vergleichen wir also 2 g Krafts Knäckebrot H oder D mit 2 g Weizen-Vollkornkrume (Versuch Nr. 66), so sehen wir, daß letztere doppelt so wirksam ist. Knäckebrot ist also dem Vollkornbrot unterlegen.

Stimmten nun unsere Versuche auch weitgehend mit Abelins Versuchen überein, so war damit das Problem der Brotverbesserung noch nicht gelöst.

Jedenfalls die Hartbrote sind nicht das Ideal. (Inwieweit die originalnordische Herstellung dem Ideal entspricht, muß geprüft werden.) Vielleicht ist die Methode unserer Knäckebrote zu ändern?

Um die Fragen gründlich kennenzulernen, war es notwendig, die Brotherstellung zu überwachen, den „Längsschnitt" zu prüfen.

Vergleich von Krume und Kruste des Handelsvollkornbrotes.

Wir gingen deshalb dazu über, verschiedene Brotsorten, deren Teile und Zubereitungsweisen zu untersuchen. Dabei hatten wir das Glück, die Mitarbeit des hiesigen Bäckermeisters Sparre, Steyrische Straße, zu genießen, der sich mit größtem Verständnis auf unsere Wünsche einstellte und die erforderlichen Brote herstellte.

Zuerst wählten wir das Handelsbrot von Herrn Sparre.

Versuch Nr. 68a.

Als Grundkost wurde die Diät X gegeben, bereichert noch durch Getreidekeime, die bei 180° C geröstet wurden (von Herrn Darboven in

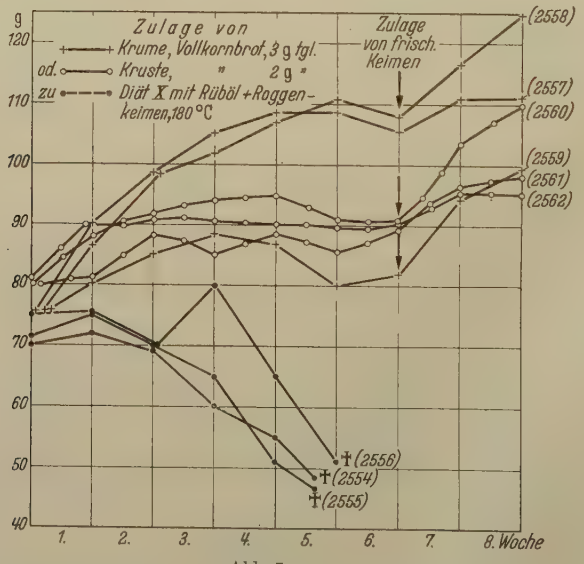


Abb. 7.

Hamburg, s. 14. Mitteilung). In 5 Wochen erfolgt der Tod der Tiere. Zugabe von 2 g Kruste ergibt einen langsamen Gewichtsanstieg von 20—30°; Zugabe von 3 g Krume (mit Rücksicht auf die größere Feuchtigkeit gewählt) einen Anstieg von 40—50°.

Werden nun nach 6 Wochen frische Keime zugegeben, dann erfolgt überall sofort Gewichtsanstieg auf 50—60°, also Übergang zur Bestnorm.

Eine Ausnahme macht das Krumetier 2595, das infolge schlechter Nahrungsaufnahme zurückbleibt. Wiederholt konnten wir beobachten, daß einzelne Ratten die Aufnahme der Brotkost verweigern.

Das Handelsvollkornbrot ist also durch frische Keime (Wuchsstoffe!) verbesserungsfähig.

Versuch Nr. 68b.

In weiteren Versuchen mit Vollkornbrot und Keimzulagen, von deren Wiedergabe aus räumlichen Gründen abgesehen werden muß, wurde folgendes gefunden:

Bei einem Anfangsgewicht von 50—60 g erreichten Ratten mit Vollkornbrot-Krume in 14 Wochen ein Gewicht von 140 g. Wurden Keime zugegeben, so wurde dies Gewicht bereits in 7 Wochen erreicht. Der Wachstumswinkel steigt dann von 40 auf 60°. Das beweist die Richtigkeit des Versuchs Nr. 68a.

Versuch Nr. 68c.

Zur Diät X werden täglich 3 g Handelsweizenbrot zugegeben. Statt einer Kurve werden hier die Gewichtszahlen mitgeteilt. Es haben

Ratte Nr.	Anfangsgewicht g	Ende der 1. Woche g	2. g	3. g	4. g	5. g	6. Woche g
2563	85	89	98	102	98	95	95
2564	80	80	85	96	96	92	90
2565	80	75	90	94	92	102	100

Trägt man diese Werte in die Kurve ein, dann ergibt sich ein Anstiegswinkel von 10—15°. Das gleiche Ergebnis hat Abelin erreicht.

Weizenweißbrot ist also weit unterlegen.

Versuch Nr. 69. Kombinierter Versuch.

Vergleich von Weizenfeinmehl (Type 812) und Roggenvollkornmehl (Type 1800), sowie von Backpulver- und Hefewirkung bei beiden Typen.

Wurde in den Versuchen Nr. 68a—68c gezeigt, daß tatsächlich die frischen Keime das Vollkornbrot zu vervollkommnen vermögen, weil offenbar bei der üblichen Herstellung Wertminderungen unbekannter Natur beim Vollkornmehl eintreten, so wurde es nun notwendig, die Einwirkung der Zubereitungsmethoden zu studieren, insbesondere den Hefeeinfluß mit dem Backpulvereinfluß zu vergleichen.

Der Versuch wurde gegliedert in folgender Anordnung:

Weizenfeinmehl, Type 812. Roggenvollkornmehl, Type 1800.

Backpulverversuche:

je 4 Ratten $\left\{\begin{matrix}4\text{ g Krume}\\2\text{ g Krume}\\2\text{ g Kruste}\end{matrix}\right\}$ je 4 Ratten

Hefeversuche:

je 4 Ratten $\left\{\begin{matrix}4\text{ g Krume}\\2\text{ g Krume}\\2\text{ g Kruste}\end{matrix}\right\}$ je 4 Ratten

In jedem Versuch wurden je 4 Ratten mit 50 g Anfangsgewicht verwendet. Infolge der schwierigen Versuchstierbeschaffung waren die Ratten teilweise nicht völlig gesund. Einige Tiere starben trotz guter Kost; bei diesen war schwere Krätze die mittelbare Todesursache. In der Kurve sind diese minderwertigen Tiere punktiert eingezeichnet.

Das Versuchsergebnis ist in Abb. 8 wiedergegeben. Es ergibt sich folgendes Bild:

1. Backpulver gegen Hefe bei Weizenfeinmehl Type 812 läßt die überragende Wirkung der Hefe erkennen: während mit zwei Ausnahmen innerhalb von 7 Wochen sämtliche Backpulvertiere sterben (diese beiden überlebten länger als 12 Wochen), bleiben alle Hefetiere (mit einer Ausnahme) leben. Sie nehmen mit einem Wachstumswinkel von 30—50° zu. Das ergibt eine grundlegende Erkenntnis:

Die Hefe verbraucht zwar einen gewissen Bestandteil des Backgutes, sie vervollkommnet aber gleichzeitig das Feinmehl durch Bildung von Wuchsstoffen. Der Keimverlust des Feinmehles wird dadurch zum Teil ausgeglichen. Die dritte Frage ist also zu beantworten: Hefe ist eindeutig dem Backpulver überlegen. Aber nicht als Eiweiß, sondern als Wuchsstoffproduzent wirkt die Hefe.

Dies zu erwartende Ergebnis zeigt, wie falsch diejenigen Gründe waren, die zur Bevorzugung des Backpulvers führten, um Kalorien zu sparen; es zeigt auch, weshalb die wirtschaftlichen Gegengründe Neumanns gegen das Backpulver unzureichend sind. Er hat aber recht, wenn er sagt:

„Überall, wo die Teiggärung noch möglich ist, sollte die Hefe wegen ihrer vollkommeneren Wirkung und schließlich auch wegen der fraglosen größeren Eignung zu Nahrungszwecken als Teiglockerungsmittel bevorzugt werden."

Wenn er aber fortfährt:

„Wo die Hefe wegen der Zusammensetzung der Teige kein geeignetes Gärsubstrat mehr findet, wird sich die Verwendung der Backpulver vorteilhafter erweisen, und man wird ihrer als brauchbares Lockerungsmittel

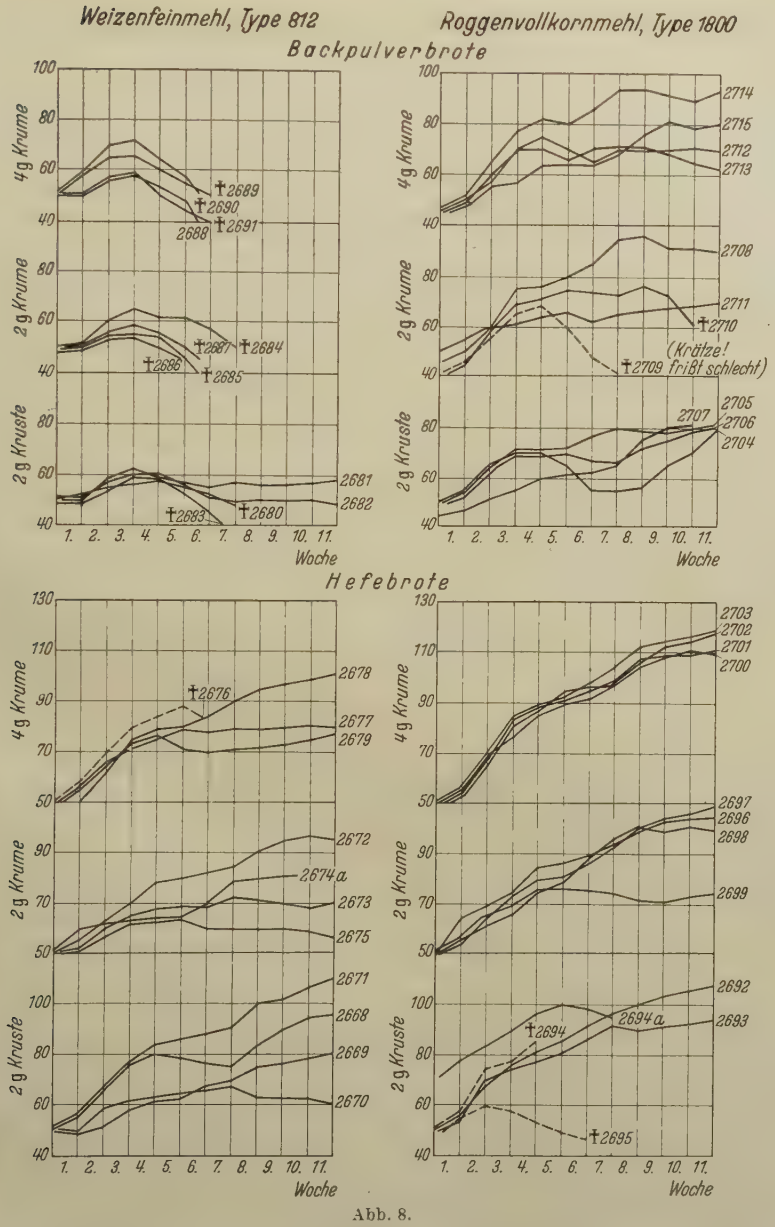


Abb. 8.

nicht mehr entbehren können," so sehen wir nun, daß das nur unvollkommene Produkte liefert, z. B. Backpulverkuchen.

Schädliche Wirkung des Backpulvers?

Ungeklärt bleibt bei diesen Versuchen, ob nicht das Überleben der beiden Kruste-Tiere (261 und 262) darauf zurückzuführen sein könnte, daß sich in der

Krume „schädliche" Stoffe anreichern, in der Kruste aber nicht. Auch Abelin denkt an schädliche Wirkung von Backpulvern.

2. Feinmehl gegen Vollkornmehl (Type 812 gegen Type 1800). Type 1800 mit Backpulver wirkt im Wachstum wie Type 812 (Weizenfeinmehl) mit Hefe. Damit erklärt sich, weshalb das alte Hefe-Weizenfeinbrot viel besser ist als der mit Backpulver hergestellte Kuchen. Die Hefe produziert wertvollste Substanzen.

Es wird aber weit übertroffen durch Roggenvollkornbrot mit Hefe zubereitet. Hier beträgt der Wachstumswinkel 50° für 4 g Krume täglich. Daß größere Krumegaben einen weiteren Anstieg herbeizuführen vermögen, erhellt aus dem früheren Versuch Nr. 66 (Abb. 5). Daraus folgt:

Es wäre durchaus möglich, durch entsprechend große Brotmengen ein Wachstum zu erreichen, das annähernd an die Bestkost herankommt, doch sind dazu solche Brotmengen erforderlich, daß sich das mit den praktischen Möglichkeiten nicht verträgt. Einmal würde eine Überernährung durch Kohlehydrate erforderlich sein, um die notwendigen Wuchsstoffmengen zu sichern; sodann aber würde die europäische Landwirtschaft gegenüber den Ansprüchen versagen müssen.

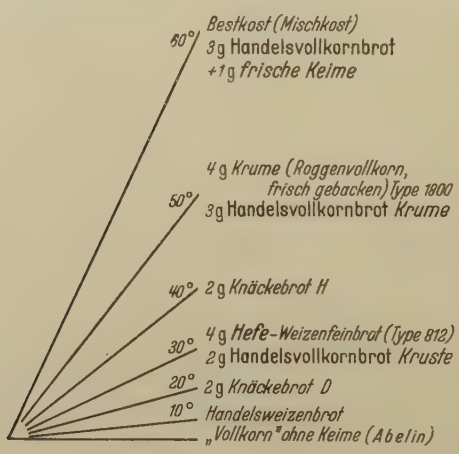


Abb. 9. Wachstumswirkung von Handels-Vollkornbrot, Knäckebrot, Weißbrot.

Die Einbeziehung der Wuchsstoffe in die Brotbewertung ergibt, daß Abelins Ansicht, die Nebenkost stelle den entscheidenden Faktor dar, nur für die denaturierten Brote gilt. Das vorsichtig hergestellte Vollkornbrot enthält alle lebensnotwendigen akzessorischen Stoffe; nur erfahren von diesen die Wuchsstoffe offenbar durch den Backprozeß eine Herabsetzung ihrer Menge, die etwa auf ein Drittel zu schätzen ist. Deshalb müßte zur Verabfolgung gleicher Wuchsstoffmengen die dreifache Brotmenge wie Mehlmenge gegeben werden. Da das praktisch nicht möglich ist, können wir das Brot in üblicher Menge benutzen, müssen aber den Wuchsstoffmangel auf andere Weise ausgleichen.

Während also die bisher übliche Berücksichtigung der Kalorien oder Mineralien oder Vitamine nicht zu ausreichenden Beweisen geführt hat, um die Bedeutung des Vollkornbrotes zu beweisen, gelingt das durch die Einbeziehung der Wuchsstoffe als Maßstab.

Eine Zusammenfassung dieser Befunde zeigt die Abb. 9.

4 g Hefe-Weizenfeinbrot wirken wie 2 g Kruste-Vollkornbrot, also halb so stark. Vollkornbrotkrume (3 g) wirkt wesentlich stärker; deren Wirkung wird verstärkt durch Zulage von frischen Keimen.

Knäckebrot ist dem Vollkornbrot unterlegen.

Da Vollkornbrot nun in sich selbst Grenzen des Verbrauchs aufweist, ist neben der Propaganda für seine Verwendung eine weitere Propaganda für Frischkost als Zukost zu treiben, um das Optimum der Volksernährung zu sichern.

Es ist zu erproben, ob durch die Frischkost nicht die Brotmenge als solche auf ein bestimmtes Minimum eingeschränkt werden kann, um bei ruhendem Körper bzw. Fehlen schwerer Körperarbeit eine Überzufuhr mit Kohlehydraten zu vermeiden.

Die Sicherung der Vollkornbrotwirkung.

Trotz größter Sorgfalt ist es im Handel nicht immer möglich, das frisch gemahlene Vollkorn umgehend zu verbacken; Tage, ja auch Wochen vergehen, insbesondere bei kleineren Bäckern mit geringem Umsatz. Andererseits haben die Großmühlen die Aufstellung von Lagerware notwendig, so daß das Problem der Silo-Aufbewahrung bzw. der Mehllagerung hier zu erörtern ist.

1. Lagerung des Getreidekorns.

Nach Schulerud, dessen Darlegungen ich folge, muß frischgeerntetes Getreide einige Zeit lagern, ehe es vermahlen werden darf. In der Nachreife finden wichtige Aufbauprozesse statt, die für die Backfähigkeit später von Bedeutung sind. Dann tritt ein Zeitpunkt ein, in dem das Getreide in Ruhe gekommen ist und lange Zeit seine Backfähigkeit behält.

Der beste Schutz ist nach Erreichung dieses Backzustandes die Kühllagerung in Silos bis zum Zeitpunkt des Vermahlens, das dem Backen möglichst unmittelbar vorauszugehen hat.

2. Lagerung des Mehles.

Wird aber die schützende Hülle um das Korn entfernt, das Mehl gelagert, so machen sich die Fermentwirkungen des Keimens, ferner Feuchtigkeit und Temperatur schädigend bemerkbar.

„Eine gewisse Lagerungszeit der Roggenmehle ist in den meisten Fällen wünschenswert, um die ‚beste Backfähigkeit' zu erzielen; über die Dauer dieser Lagerung aber erhält man aus der Praxis höchst verschiedene Angaben. Es kommen Fälle vor, wo die großen Brotfabriken, die über eine eigene Mühle verfügen, das Schrotmehl zum Schwarzbrot ohne jegliche Lagerung in Gebrauch nehmen. Hier zeigen sich die Verhältnisse in einer Sonderstellung, denn bei den meisten Schrotbroten hat man nicht an die äußere Gestaltung der Brote und die Porung zu denken; es gilt hauptsächlich Getreide zu vermahlen, das so frei von Auswuchs ist,

daß Teigrand und feuchte Krume vermieden werden. Andererseits kennt man auch Fälle, wo das Mehl sehr lange gelagert wird (Schulerud, S. 87). „Für feiner ausgemahlene Mehle, die also keine Schrotmehle sind, hat man gewöhnlich damit gerechnet, daß 1 Monat Lagerung genüge, und die Backfähigkeit nach 2—3 Monaten wieder abzusinken beginne."

Wir sehen, daß der Einfluß der Lagerung nicht nach biologischen Gesichtspunkten erfolgt, sondern nach dem der „Backfähigkeit". Von diesem Begriff müssen wir uns eine klare Vorstellung machen.

„Unter ‚Backfähigkeit' versteht man die Summe aller Eigenschaften, die ein Mehl zur Herstellung eines den ‚Anforderungen' entsprechend gelockerten, porigen Gebäcks haben muß. Die Backfähigkeit, die somit ein technologisches Wertmerkmal ist, und durch die engere lebensmittelchemische Untersuchung (Reinheit, Unverdorbenheit, Unverfälschtheit) nicht bzw. nur sehr lückenhaft erfaßt wird, muß der vorstehenden Umschreibung gemäß eine ganze Reihe von mitunter in Wechselwirkung stehenden Faktoren umfassen. Die eine Gruppe derselben beruht auf den naturgegebenen Eigenschaften von Korn und Mehl, die andere geht auf die müllerei- und bäckereitechnische Behandlung zurück" (Täufel, S. 62).

Die letztere ist nun also jene, die gut oder schlecht geleitet werden kann.

Diese Backfähigkeit benutzt nun nicht die biologischen Werte, sondern die Porung, den Wassergehalt usw. des endgültigen Brotes. Wir wissen, daß diese porenreichen Weißbrote biologisch minderwertig sind, die porenarmen Vollkornbrote bzw. Schrotbrote aber hochwertig. Demnach ist wohl der bisher benutzte Maßstab der „Porung" bzw. Backzahl durch einen neuen, biologisch richtigeren zu ersetzen.

Als diesen Maßstab schlage ich den Nachweis der Wuchsstoffe vor unter Benutzung der hier geschilderten Methodik des Wachstumswinkels. Wir sahen, daß selbst Weizenfeinmehl durch die Hefetätigkeit Wuchsstoffe in nachweisbarer Menge bekommt. Minderwertig bleibt hingegen stets das Backpulvergebäck aus Feinmehl.

Späteren Versuchen wird es vorbehalten sein, die hier notwendigen Standardwerte zu finden.

Brotnahrung oder Breinahrung?

Da es nun als zweifellos anzusehen ist, daß eine gewisse quantitative Wertherabsetzung der Wuchsstoffwirkung beim Prozeß der Brotherstellung unvermeidbar ist, so daß unerhitzte Frischkost eine deutlich nachweisbare Wachstumsverbesserung herbeiführen kann, ist die Frage zu erörtern, ob nicht die Breinahrung — möglichst in unerhitzter Form, ähnlich dem Bircher-Benner-Müsli — stärker zu befürworten ist als bisher.

Hier berühren wir ein ungelöstes Problem, das damit gekennzeichnet sei, daß $^4/_5$ der Menschheit Breiesser sind, nur $^1/_5$ Brotesser; daß aber die meisten Gebißschädigungen bei den Brotessern auftreten sollen.

Obwohl früher der Breigenuß die eigentliche Ernährungsgrundlage war, ist heute ohne jeden Zweifel, daß in dem Großteil der Bevölkerung

eine gewisse Abneigung gegen den Breigenuß vorhanden ist und Brot bevorzugt wird, so daß eine derartige Propaganda vielleicht auf noch größere Schwierigkeiten stoßen würde als die Vollkornbrotpropaganda. Und doch scheint mir, daß diese Möglichkeit beachtet werden muß. Ich denke mir folgenden Weg:

Die Schwierigkeiten einer vermehrten Breinahrung sind bei Kindern und Frauen geringer als bei arbeitenden Männern. Würde die Industrie gereinigte Körner liefern, die in jedem Haushalt in besonderen Quetschapparaten frisch gequetscht, sodann aufgeweicht und zu Brei verarbeitet würden, dann bestände hier eine Möglichkeit zur Einführung in manchen Kreisen. Eine allgemeine Einführung darf man kaum erwarten. Aber z. B. in Jugendlagern, Krankenhäusern, dürfte diese Methode eine zweckmäßige Anwendung finden; im Einzelhaushalt ist sie zu fördern. Langsam könnte der Mehrverbrauch von Haferbrei erfolgen wie in alten Zeiten.

Die Frage, ob man unerhitzten oder erhitzten Brei anwenden soll, richtet sich nach dem Zweck. Das unerhitzte „Lebensmittel" ist vollwertiger als das erhitzte „Nahrungsmittel". Ich verweise auf meine Unterscheidung beider Begriffe nach dem Eigenfermentgehalt. Brot ist Nahrungsmittel, unerhitzter Brei Lebensmittel*. Die Verwendungsmöglichkeiten sind aber ganz verschieden. Daß das zum Brei zu verwendende Material nicht gebleicht werden darf, ist selbstverständlich.

Zusammenfassung.

1. Es wird untersucht, ob die Wuchsstoffe im Getreidekeim oder deren Bildung durch Hefe im Brotteig eine Bedeutung für die Beurteilung der Brotbewertung haben.

2. Es werden sowohl Brote untereinander in bezug auf die Wachstumswirkung verglichen (Querschnitt), wie der Wuchsstoffgehalt während der Brotherstellung vom Vollmehl zum Brot untersucht (Längsschnitt).

3. Der Vorgang und die Intensität des Rattenwachstums erwiesen sich als geeignetes Testverfahren, dessen Ergebnisse mit den vernünftigen Erwartungen über die Brotverschiedenheiten besser übereinstimmen als die bisherigen Vitamin- und Mineralvergleichungen.

4. Als Test wird die Steilheit der Wachstumskurve gewählt; im Koordinatensystem entspricht 1 Woche (waagerecht) je 10 g Zunahme (senkrecht). Der „Wachstumswinkel" wird bestimmt.

5. Vollkornmehl enthält etwa dreimal mehr Wuchsstoffe als die daraus hergestellte Brotkrume.

6. Vollkornbrot erweist sich als wesentlich wirksamer als das Handelsweißbrot mit Hefe.

---

* „Laßt unsere Nahrung so natürlich wie möglich." Stuttgart, Hippokrates-Verlag, z. Z. im Druck.

7. Weizenfeinmehl mit Backpulver führt zum Tod der Tiere, Hefezusatz gewährt Wachstum. Der Kalorienverlust bei der Hefegärung wird durch Wuchsstoffproduktion mehr als ausgeglichen.

8. Brot enthält also Wuchsstoffe, und deren Menge kann als Maßstab zur Wertbestimmung auf biologischem Wege dienen; Brot ist also kein Vitaminproblem, sondern ein Wuchsstoffproblem.

9. Auch die besten Brote in der praktisch verwendbaren Menge können durch wuchsstoffhaltige Zukost noch verbessert werden; sehr geeignet sind Getreidekeime, Hefe usw.

10. Um zu einer immer besseren Volksernährung zu gelangen, wird man dazu übergehen müssen, mancherlei Änderungen im derzeitigen Müllerei- und Bäckereigewerbe zu erstreben.

Literatur.

Abelin: Zur Brotfrage. Vitaminforsch. **10**, 45 (1940). — Grandel: Der Keim ist das Wunder des Lebens. Schriften der Pfladermühle in Augsburg. — Kollath: Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung. XIV. Mitteilung. Über „Mesotrophie" und verfrühtes Alter als Mangelkrankheit: Fehlen von Wuchsstoffen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 550 (1941). Dort auch die weiteren Literaturangaben. — Kollath: Ernährungsversuche über die unterste Grenze der Lebensmöglichkeit und den Aufstieg zur Norm. D. med. Wschr., im Druck. — Kollath: Grundlagen einer dauerhaften Ernährungslehre. Wien. med. Wschr. Nr. 9, 1941. — Kraft: Wahrheiten über das Brot. Frankfurt a. M., Salle, 1938. — Neumann, M. P.: Brotgetreide und Brot. Berlin, Parey, 1914. — Pfannenstiel u. Filling: Versuche über Brotkonservierung. Berlin, Nordland-Verlag, ohne Jahreszahl. — Rudolph, W.: Die Vitamine der Hefe. Wissensch. Verlagsges. m. b. H., Stuttgart, 1941. — Schulerud: Das Roggenmehl. Leipzig, Schäfer, 1939. — Täufel: Getreide, Hülsenfrüchte und Mühlenerzeugnisse. In: Handb. Lebensmittelchemie, 5. Bd. Berlin, Springer, 1938. Das Vollkornbrot. Die Deutsche Arbeitsfront. Nr. 843. — Ziegelmeyer: Rohkostfragen. Dresden u. Leipzig, Steinkopff, 1939.

Aus der chirurgischen Klinik der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. E. Rehn.)

Über die Wirkung von Sterinderivaten auf den Stoffwechsel*).

I. Mitteilung: Die Wirkung von Digitalissubstanzen auf den Grundumsatz.

Von

Christian Bomskov, Kurt Nikolai von Kaulla und **Johann Maurath.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Juli 1941.)

Die Entdeckung des Thymushormons und die nähere Aufklärung der physiologischen Wirkungen dieser Substanz haben gezeigt, daß in der ätherlöslichen Fraktion des Thymus eine öllösliche stabile Substanz vorhanden ist, die außerordentlich starke Wirkungen auf den Stoffwechsel entfaltet. Diese Substanz erzeugt einen Zustand, der gekennzeichnet ist durch Glucosurie, Senkung des Leberglykogens und Herzglykogens und der dem Diabetes außerordentlich ähnelt. Die Reaktionen des Thymushormons sind dieselben wie die des diabetogenen Hormons des Hypophysenvorderlappens, das nach unseren Arbeiten als das thymotrope Hormon aufzufassen ist.

Wir haben in mehreren Abhandlungen zwei Wirkungen des Thymushormons vor allen anderen herausgestellt und als charakteristisch für den Thymus bezeichnet:

1. handelt es sich hierbei um die besondere Stoffwechsellage, die durch das Thymushormon erzeugt werden kann. Es ist dies die sogenannte dysoxydative Carbonurie von Bickel (1), d. h. diejenige Stoffwechsellage, die für das Kind physiologisch ist. Wir können diese Stoffwechsellage außer einer dysoxydativen Carbonurie ebenfalls an der Tatsache fassen, daß das Thymushormon in der Lage ist, die Schilddrüse sowohl im Tierversuch wie klinisch bei Hyperthyreose weitgehend zu bremsen. Diese Hemmung der oxydativen Stoffwechsellage, d. h. der Oxydationen im Intermediärstoffwechsel, ist für die Thymuswirkung eine charakteristische Reaktion. Wir verweisen hier darauf, daß diese Hemmung bereits in früheren Arbeiten

---

* Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde als Doktor-Dissertation von cand. med. Maurath bearbeitet.

Wir danken an dieser Stelle dem Herrn Oberpräsidenten und Gauleiter von Schleswig-Holstein, Hinrich Lohse, für Mittel, die uns die Durchführung dieser Arbeit ermöglichten. Wir möchten ebenfalls der Forschungsgemeinschaft der deutschen Wissenschaft und dem Reichsforschungsrat für die Erteilung eines Forschungsstipendiums danken.

über den Thymus beschrieben wurde. So gibt Nitschke (2) an, daß seine sogenannte P-Substanz, die er aus Thymus darstellt, imstande ist, den normalen und hormonal erhöhten Grundumsatz zu senken. Auch Suzuki (3) findet eine Hemmung der Oxydationen durch Thymusextrakt und Schliephake (4) hat aus dem Thymus einen Extrakt gewonnen, der bei Hyperthyreose und Basedow den Grundumsatz senkt. Bereits früher haben Zondek und Mitarbeiter (5) über die Darstellung einer den Grundumsatz senkenden Substanz berichtet. Es ergibt sich aus diesen Beobachtungen und einer ganzen Reihe weiterer Befunde in der Literatur, daß wir mit einem Antagonismus zwischen Schilddrüse und Thymusfunktion rechnen müssen, jedenfalls, was die Oxydationslage des Organismus betrifft.

2. haben wir eine charakteristische Reaktion des Thymushormons in der Beeinflussung der Herzaktion zu sehen. Übermäßige chronische Zufuhr von Thymushormon erzeugt einen Zustand, der ähnlich dem Status thymico-lymphaticus dadurch gekennzeichnet ist, daß kleinste äußere Reize, wie Chloroformnarkose, einen akuten Herztod herbeiführen. Die Ursache dieser Erscheinung liegt, wie Bomskov, Hölscher und Hartmann (6) nachgewiesen haben, in einer starken Senkung des Herzmuskelglykogens. Diese Senkung des Herzmuskelglykogens, die an sich beim sonst ungeschädigten Tier nicht mit dem Leben unvereinbar wäre, da das normale Herz sein eigenes Glykogen nicht verbraucht, gewinnt im Zusammenhang mit der obenerwähnten Hemmung der Oxydation für das Herz eine entscheidende Bedeutung. Bekanntlich hat sich zeigen lassen, daß das Herz bei Sauerstoffmangel sein eigenes Glykogen für den Betriebsstoffwechsel benötigt. Treten bei einem Herzen beide Zustände wie Glykogenverarmung und Hemmung der Oxydation ein, so ist die Folge davon ein akutes Versagen bei Belastung. Diese charakteristische Herzreaktion ist die zweite wesentliche Reaktion des Thymushormons.

Die zentrale Stellung des Thymushormons im Stoffwechsel ergibt sich auch aus dem Ausfallsbild der Thymektomie, das neuerdings von Bomskov und Hölscher (7) beschrieben wurde. Auch bei Ausfall der Thymusfunktion finden wir die wesentliche Störung in der Muskulatur, insbesondere in der Herzmuskulatur. Ausfall des Thymus führt außerdem zu einem mehr oder minder absoluten Wachstumsstillstand. Das Thymushormon kann deshalb als ein Hormon, das für das Wachstum und die normale Funktion der Muskulatur, insbesondere des Herzens, wichtig ist, angesprochen werden. Hinsichtlich des Wachstums ist hierbei die Hemmung der dem Wachstum antagonistischen Schilddrüsenfunktion von Bedeutung.

Chemisch wissen wir vom Thymushormon heute nur, daß es sich um eine relativ stabile Substanz handelt, die in der Sterinfraktion des Thymusöles vorkommt. Dieser Hinweis auf eine mögliche Sterinnatur der Substanz legte den Gedanken nahe, Sterine verschiedener Konstitution in ihrer

Wirkung auf den Stoffwechsel zu untersuchen, um möglicherweise ähnlich wirksame Substanzen zu finden. Stoffwechselwirkungen von Sterinsubstanzen sind nun schon sehr lange bekannt. Wir verweisen insbesondere auf die Stoffwechselwirkungen der Nebennierenrindenhormone, der Sexualhormone, der Gallensäuren usw.

Über die Wirkung der Gallensäuren auf den Stoffwechsel ist bekannt, daß sie eine Hemmung der Dehydrierungsvorgänge und der Oxydationsvorgänge verursachen [Uraki (47)]. Nach Fukui (48) hemmt die Dehydrocholsäure die Oxydation und Verbrennung von Glucose, Glykogen und anderen Zuckern.

Es liegen ebenfalls in der Literatur einige Angaben über die Wirkung der Nebennierenrindenhormone auf den Stoffwechsel vor, so geben Bauer und Buttu [49] an, daß Nebennierenrindenhormon nach Swingle und Pfiffner (50) keine Wirkung auf den Gasstoffwechsel der Katze hat. Koehler (51) dagegen sah bei Ratten einen stoffwechselsteigernden Effekt, den Shinobe (52) bestätigen konnte. M. Franke (53) dagegen konnte bei Hunden mit Rindenextrakt eine Senkung des Grundumsatzes erreichen. v. Plehwe gibt an, daß die Behandlung von Hyperthyreosen mit Cortiron keine wesentliche Änderung des Grundumsatzes bedingt.

Über die Beeinflussung des Stoffwechsels durch die Keimdrüsen besteht eine erheblich umfangreichere Literatur. Die Tatsache, daß nach der Kastration der Grundumsatz sinkt, ist auch im Tierversuch von einer ganzen Reihe von Autoren bestätigt [Hoffmeister (54), Viczor und Anderson (55), Ritzmann und Mitarbeiter (56)].

Über die Wirkungen der Zufuhr des Follikelhormons auf den Grundumsatz ist ebenfalls sehr oft berichtet worden. Die meisten Autoren geben aber an, daß die Wirkung des Follikelhormons auf den Grundumsatz nur sehr unerheblich ist. Piacentini und Mitarbeiter (57) haben nach Hormongaben zwischen 50000 und 250000 I. E. nur eine geringe Stoffwechselwirkung gesehen. Geriola (58) vermutet, daß die Ovarien über die Hypophyse die Schilddrüse beeinflussen können. Injektion von Follikelhormon soll bei Mensch und Meerschweinchen die spezifisch-dynamische Wirkung hemmen. Gessler (59) konnte den Grundumsatz hyperthyreoidisierter Meerschweinchen durch Follikelhormonzufuhr wesentlich senken. Benutzt wurden Dosen von 5000 I. E. pro Tag einige Tage lang. Nach Virgino und Mitarbeiter (60) haben dagegen Dosen von 50—100000 I. E. Follikelhormon keine deutliche Wirkung auf den Grundumsatz.

Es liegen auch einige klinische Angaben über die Wirkung des Follikelhormons auf den Stoffwechsel vor, so gibt Lederer (61) an, daß hohe Dosen von Follikelhormon (25—20 mg über 3 Wochen) bei Basedow und Thyreotoxikose schlagartig wirken. Geriola (62) stellt bei 8 Fällen von Basedow eine leichte Senkung des Grundumsatzes nach Zufuhr von Follikelhormon fest, ebenso reagierten 8 Fälle von Hyperthyreoidismus. In anderen Fällen war die Zufuhr von Follikelhormon aber auch unwirksam. Auch Piacentini (63) und Guerioco sahen bei der Frau keine merkliche Änderung des Grundumsatzes nach Zufuhr von Follikelhormon.

Über die Stoffwechselwirkung des Testosterons berichten Kenyon und Mitarbeiter (64), die eine Steigerung des Grundumsatzes nach Testosteron beobachtet haben wollen. Bemerkenswert ist die Angabe von Zavadovsky und Mitarbeiter (65) daß synthetisches Androsteron und Testosteron den durch Schilddrüsenpulver hervorgerufenen Federausfall bei Hennen weitgehend kompensieren können.

Über die Wirkung des Progesterons auf den Stoffwechsel gibt Zain (66) an, daß bei Hyperthyreose der Ratte durch hohe Progesterondosen der Grundumsatz wieder gesenkt werden kann. Es wird vermutet, daß die Wirkung über die

Hypophyse verläuft. Starr und Mitarbeiter (67) fanden durch Schwangerenharnpräparate, die ja bekanntlich das Corpus luteum zur Funktion anregen, in klinischen Fällen von Hyperthyreose Besserung des Grundumsatzes und einen Gewichtsanstieg. Die Wirkung verläuft über das tätige Ovar.

Die Wirkungen der vorstehend genannten Sterinderivate auf den Stoffwechsel sind entweder unklar oder nicht sehr überzeugend. Zusammenfassend können wir jedenfalls betonen, daß weder mit dem Nebennierenrindenhormon noch den männlichen oder weiblichen Sexualhormonen Wirkungen zu erzielen sind, wie wir sie für das Thymushormon als charakteristisch hinstellen.

Es ist aber nun eine Körperklasse unter den Sterinen bekannt, die ebenfalls wie das Thymushormon durch ihre außerordentlich starke Wirkung auf das Herz gekennzeichnet ist: das sind die Digitalissubstanzen, die um so größeres Interesse beanspruchen, als neuere Untersuchungen gezeigt haben, daß Digitalis-ähnliche Körper auch vom tierischen Organismus gebildet werden können, und zwar handelt es sich hierbei um die Befunde, daß die Krötengifte in ihrer chemischen Konstitution den Digitalissubstanzen sehr nahestehen [Kotake(6)].

Über die Verknüpfung der Digitalissubstanzen mit den anderen Sterinderivaten, insbesondere Oestron, siehe Butenandt und Gallagher(9), die aus einem Strophanthinkörper eine Oestroncarbonsäure dargestellt und damit die pflanzlichen Herzgifte mit der Oestrongruppe verknüpft haben.

Untersuchen wir die Frage nach der Wirkung der Digitalissubstanzen auf den Stoffwechsel näher, so zeigt sich, daß eine Reihe von Befunden bekannt ist, in denen über eine starke Stoffwechselwirkung der Digitalissubstanzen berichtet wird. Bei einem näheren Vergleich der Wirkung der Digitalissubstanzen zeigt sich nun, daß wir in einer ganzen Reihe von Fällen eine auffallende Übereinstimmung zwischen der Digitaliswirkung und der Wirkung unseres Thymushormons feststellen können.

Zunächst handelt es sich hierbei um die Wirkung der Digitalissubstanzen auf das Herz. Ein insuffizientes Herz verbraucht bei verminderter mechanischer Arbeitsleistung mehr Sauerstoff als ein normales. Nach Zufuhr von Digitalissubstanzen wird dieser erhöhte Sauerstoffverbrauch des Herzens herabgesetzt. In derselben Linie liegen verschiedene Literaturmitteilungen über die Wirkung der Digitalissubstanzen auf die quergestreifte und glatte Muskulatur. Parallel dem Herzen soll nach Digitalis ein ermüdeter Muskel wieder normale Zuckungshöhen erreichen und von der glatten Muskulatur soll man nach Digilatisierung eine Erhöhung des Tonus und der Peristaltik erzielen können. Die leistungssteigernde Wirkung des Digitalis soll auf einer besseren Resynthesefähigkeit der Muskulatur beruhen (Lit. bei Weese).

Wirkungen der Digitalissubstanzen auf den Sauerstoffverbrauch bzw. auf den Grundumsatz sind schon lange bekannt. So gibt bereits Weese(10)

in seiner Digitalismonographie an, daß die Thyroxinwirkung auf den Stoffwechsel dieselbe Richtung wie toxische Digitalisdosen hat, während niedrige Digitalisdosen der Schilddrüse entgegengesetzt wirken. Die Tatsache, daß kleine Digitalisdosen den Sauerstoffverbrauch überlebender Gewebe senken, ist von einer großen Anzahl von Autoren beschrieben, ebenso die Erscheinung, daß bei größeren Dosen eine Umkehrung der Wirkung eintritt. So geben z. B. Weese und Wiegand (11) an, daß Strophanthin in Verdünnungen von 1 : 1000 bis 1 : 100000 den Sauerstoffverbrauch der Mäuseleber hemmt. Auch Frühauf (12) findet im Warburg-Apparat bei Warmblütermuskulatur mit Strophanthin in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-5} Hemmungen des Sauerstoffverbrauches. Buddeberg (13) stellt fest, daß die Sauerstoffatmung des Froschmuskelbreies durch Digitalisstoffe in Konzentrationen von $2 \cdot 10^{-10}$ bis $2 \cdot 10^{-6}$ um 50 % herabgedrückt wird. Die Genine sind nur halb so wirksam wie die Glykoside. Auch die Verbrennung künstlich zugesetzter Laktate wird gehemmt. Die Hemmung muß in die aerobe Phase verlegt werden, da nach Haarmann (14) die Digitalisglykoside die Milchsäurebildung aus Glykogen fördern. Die Leberatmung soll angeregt werden, am Herzen wechselt der Einfluß je nach der Tierart. Auch Maria Freye (15) stellt fest, daß im Warburg-Apparat niedrige Konzentrationen von Strophanthin den Sauerstoffverbrauch von Herz-, Leber- und Muskelgewebe hemmen. Bei höheren Konzentrationen tritt eine Steigerung auf.

Am intensivsten hat sich Gremels (16) mit dem Einfluß der Digitalisglykoside auf die Vorgänge am Säugetierherzen befaßt. Am Herz-Lungenpräparat senken Strophanthin und Digitoxin in therapeutischen Dosen den normalen und den durch Adrenalin oder Sympatol gesteigerten Sauerstoffverbrauch, indem sie die Vaguswirkung des Azetylcholins, die auf einer Verminderung des Sauerstoffverbrauches und Senkung der Schlagzahl beruht, steigern. Toxische Strophanthindosen steigern dagegen den Sauerstoffverbrauch. Auch andere Autoren, wie Averbeck (17), Pötting (18), Többen (19), Schäfer (20) und Leppelmann (21) haben sich mit der Frage der Wirkung der Digitalissubstanzen auf den Stoffwechsel befaßt. Die Frage der Milchsäurebildung wurde von Genuit und Haarmann (22) genauer untersucht. Es liegen in der Literatur auch einige Mitteilungen vor, die über entgegengesetzte Befunde berichten. So soll nach Gotsch bei Hypotonikern Strophanthin in die Arteria brachialis gespritzt in der Vena mediana eine Steigerung der Sauerstoffausnutzung bedingen. Im Herzmuskel tritt vermutlich auch eine Steigerung der Ausnutzung des Sauerstoffs ein. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Klein und Gotsch (24).

Im Gegensatz zu diesen Befunden stellt Risser (25) fest, daß weder Digitoxin noch Strophanthin die Oxydationsvorgänge im Muskelbrei oder die Atmung des Froschherzens beeinflussen.

Eismayer und Quinke (26) haben in Stoffwechselversuchen am Kaltblüterherzen eine Zunahme des Gasstoffwechsels nach Strophanthin festgestellt. Auch nach Victor (27) steigert Strophanthin in einer Verdünnung von $3 \cdot 10^{-5}$ den Sauerstoffverbrauch von Herzmuskelstreifen von Rana pipiens. Freund (28) stellt fest, daß erst toxische Dosen den Sauerstoffverbrauch der Muskulatur von Kaninchen und Hund nach der Warburg-Methode hemmen. Die anaerobe Milchsäurebildung wird durch Digitalis gesteigert, die Glucoseauswertung gebessert.

In die Reihe der zitierten Arbeiten gehört auch diejenige von Hartstein (29), der feststellt, daß Strophanthin-vorbehandelte Personen einen extremen Schnellauf länger durchführen können als normale. Die Sauerstoffschuld ist bei ihnen im Gegensatz zu den unbehandelten Personen mehrere Tage lang erhöht.

Schließlich ist hier noch die Arbeit von Linzel (30) zu erwähnen über den Einfluß der Digitaliskörper auf die Methylenblauentfärbung, die nach Zufuhr der Digitalispräparate bei Froschmuskelbrei etwas schneller erfolgt als sonst.

Endlich haben noch Eckey und Vorwerk (31) gezeigt, daß nach Strophanthin eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauches eintreten kann.

Beziehungen zwischen Oxydation des Organismus und Digitalis sind bereits aus der Klinik längere Zeit bekannt. So benötigt man bei Hyperthyreose größere Digitalisdosen als normalerweise [Freund (32)]. Niccolini (33) stellt fest, daß die Digitaliswirkung bei Hyperthyreose herabgesetzt ist. Mc Intyre (34) gibt an, daß bei Kaninchen, die hyperthyreoidisiert sind, die Digitaliswirkung stärker ist als normalerweise, während Hahn und Mitarbeiter (35) keine Unterschiede feststellen konnten.

Staar und Mitarbeiter (37) berichten über zwei Fälle von Hyperthyreoidismus, wonach Digitalisgaben den Sauerstoffverbrauch herabsetzen. Bei gesunden Personen sollen weder Atmung noch Ruhestoffwechsel durch Digitaliskörper beeinflußt werden [Anthony und Mitarbeiter (38)].

Nach diesen Ergebnissen der Literatur war es deshalb von größtem Interesse, die Wirkung der Digitalissubstanzen im Vergleich zur Wirkung des Thymushormons zu untersuchen. Bereits aus den Angaben der Literatur läßt sich so viel ersehen, daß jedenfalls eine der Hauptwirkungen des Thymushormons, nämlich die Senkung der Oxydationslage, sich auch mit Digitalissubstanzen erreichen läßt.

In einer folgenden Mitteilung wollen wir über die Wirkung der Digitalissubstanzen auf den Kohlehydrathaushalt, insbesondere auf den Glykogengehalt von Herz und Leber, berichten. An dieser Stelle soll lediglich nachgeprüft werden, ob wir durch Zufuhr der Digitalissubstanzen in der Lage sind, die Oxydation des Organismus in derselben Weise zu hemmen wie durch Zufuhr von Thymushormon selbst.

Methodik der Versuche.

Zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauches wurden Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 170–220 g verwendet. Die Tiere wurden noch jung aufgekauft und dann zunächst mindestens 3 Wochen in unserem Meerschweinchenkeller gehalten, der eine konstante Temperatur von 25° aufweist. Für den Versuch selbst wurden sie in Gruppen zu je 4 Tieren zunächst 8 Tage in kleinen Stoffwechselkäfigen in unseren Laboratorien untergebracht. Den Tieren wurde Heu bzw. Gras, Rüben und Brot ad libidum als Futter verabreicht. Dann wurde der Sauerstoffverbrauch in vier Perioden zu je 15 Minuten bestimmt. Vor dem Versuch wurden die Tiere 3 Stunden nüchtern gesetzt. Die Tiere kamen in ihren Stoffwechselkäfig zurück. Nach 3 Tagen schloß sich die zweite Sauerstoffbestimmung in derselben Weise an. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Differenz im Sauerstoffverbrauch zwischen den zwei Bestimmungen auf Kilogramm und Minute berechnet, bei den meisten Tieren eine Schwankungsbreite aufwies, die unter 8% lag. Betrug die Schwankungsbreite mehr als 8%, so wurden die Tiere aus dem Versuch ausgeschlossen. Der den weiteren Versuchen zugrunde gelegte Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Minute wurde als Mittelwert aus beiden Bestimmungen berechnet. Auf diese Weise konnte erzielt werden, daß nur Tiere in den Versuch kamen, die einen sehr gleichmäßigen Sauerstoffverbrauch aufwiesen. Es ist selbstverständlich, daß nur Perioden gewertet wurden, in denen die Tiere absolut ruhig saßen; das läßt sich mit ziemlicher Sicherheit durch eine gleichmäßige Umgebungstemperatur von 31° erzielen. Bezüglich der Apparatur verweisen wir auf die Publikation von Bomskov und Spiegel, in der sie in allen Einzelheiten beschrieben ist.

Die Injektion der Präparate geschah in allen Versuchen gleichmäßig subcutan, wobei die entstandene Quaddel etwas verrieben wurde. Zur Steigerung des Sauerstoffverbrauchs wurde ein thyreotropes Hormon der Firma Schering A.-G., Berlin, benutzt, das als Trockenpulver in Ampullen in den Handel kommt. Seine Lösung erfolgt in Kochsalzlösung, die n/100 salzsauer ist. Die Injektion wird ohne Reaktion vertragen. Die Präparate haben nur eine beschränkte Lebensdauer, da die Wirksamkeit langsam abnimmt. Daher sind stets die Kontrolluntersuchungen mit dem thyreotropen Hormon aus derselben Herstellungsserie und an demselben Tage durchgeführt worden. Auf diese Weise gelang es, ein sehr sicheres Vergleichsmaterial zusammenzustellen. Wenn wir zu bemerken glaubten, daß die Wirksamkeit einer Fraktion abnahm, wurde sie nicht weiter verwendet und stets nur neue, direkt von der Firma bezogene Präparate in den Versuch genommen.

Als Digitalispräparat kam Digilanid Sandoz zur Verwendung.

Versuchsprotokolle.

In Tabelle 1 haben wir den Grundumsatz unbehandelter Meerschweinchen zusammengestellt. Es handelt sich um Doppelbestimmungen, die jeweils an demselben Tier nach 3 Tagen wiederholt wurden.

Tabelle 2 zeigt die Beeinflussung des Grundumsatzes durch Pretiron, d. h. durch thyreotropes Hormon, und zwar haben wir hier zwei verschiedene Dosierungen, nämlich 75 und 125 MsE. täglich gewählt. Nach 75 MsE. Pretiron täglich wurde der Sauerstoffverbrauch nach 3 Tagen und bei denselben Tieren nach 4 Tagen untersucht. Nach 125 MsE. Pretiron wurde zunächst bei 7 Tieren der Sauerstoffverbrauch nach 4 Tagen und bei 2 Tieren nach 3 Tagen festgestellt. Bei denselben Tieren wurde wieder nach 5 Tagen die Untersuchung vorgenommen. Die einzelnen Werte ergeben sich aus der Tabelle.

Tabelle 1. Grundumsatzwerte unbehandelter Meerschweinchen.
a) 1. Bestimmung,
b) 2. Bestimmung nach 3 Tagen.

Tier Nr.	Gewicht in g a)	O_2/kg a)	Gewicht in g b)	O_2/kg b)	Gewicht Mittelwert g	O_2/kg Mittelwert
26	243	16,30	245	16,04	244	16,17
23	305	16,90	298	15,84	301	16,37
44	203	17,29	216	16,93	209	17,11
201	182	19,96	175	19,03	178	19,58
180	181	16,02	173	16,02	177	16,02
181	178	17,75	180	18,33	179	18,04
178	182	18,68	188	19,77	185	19,22
172	163	18,80	163	18,77	163	18,78
168	180	16,93	180	16,85	180	16,89
176	170	21,76	170	21,95	170	21,86
173	170	17,54	190	17,36	190	17,45
174	188	17,90	188	17,71	188	17,80
226	230	18,89	220	17,77	225	18,08
27	190	16,90	171	16,90	180	16,90
256	184	17,33	187	18,71	185	18,02
260	182	19,41	187	19,25	184	19,33
263	195	18,11	196	18,11	195	18,11
259	170	20,97	172	19,94	171	20,45
152	180	19,44	195	19,82	187	19,63
153	170	18,47	169	18,93	169	18,70
157	158	18,63	192	19,61	175	19,12
161	162	18,88	162	19,32	162	19,10
171	170	17,64	166	16,86	168	17,25
190	157	17,19	159	17,98	158	17,59
159	177	18,41	189	17,89	183	18,15
179	165	17,50	170	19,11	167	18,30
227	210	17,02	218	17,10	219	17,06
210	253	19,20	248	19,60	250	19,40
203	186	20,40	175	20,00	181	20,20
484	163	18,20	166	21,26	164	19,73
45	196	18,53	212	19,02	204	18,77
254	200	18,66	199	24,62	199	21,64
265	195	18,11	210	21,42	202	19,76
406	182	20,14	176	18,75	179	19,44
407	189	21,83	186	20,24	187	21,03
127	205	18,68	195	19,48	200	19,08
258	190	18,94	185	18,01	187	18,47
126	180	19,62	174	21,39	177	20,50
244	179	18,20	182	18,20	180	18,20
390	230	19,26	206	18,30	218	18,78
261	164	18,29	161	20,49	162	19,39
257	192	18,06	186	18,17	189	18,12
151	185	18,19	188	18,43	186	18,31
128	195	18,76	205	18,29	200	18,52
155	180	20,18	184	20,10	182	20,14
187	173	17,26	166	17,06	169	17,16
156	166	20,18	165	19,64	165	19,91
186	199	19,74	200	19,00	199	19,37
189	160	18,31	158	18,76	159	19,05
154	168	20,59	170	21,17	169	20,88
124	166	19,15	165	20,15	165	19,65
184	165	20,40	166	21,86	165	21,13
125	167	19,96	175	18,30	171	19,13

Fortsetzung der Tabelle 1.

Tier Nr.	Gewicht in g a)	O_2/kg a)	Gewicht in g b)	O_2/kg b)	Gewicht Mittelwert g	O_2/kg Mittelwert
126	176	15,01	198	17,67	187	16,34
30	219	20,30	209	19,10	214	19,70
29	198	18,70	206	19,10	202	18,90
204	189	17,70	188	18,50	188	18,10
232	318	18,69	315	16,66	316	17,67
206	203	18,02	204	17,85	203	17,93
41	213	22,37	222	19,97	217	21,17
42	200	18,50	202	17,82	201	18,16
410	171	16,00	171	16,05	171	16,02
121	223	17,86	215	17,95	219	17,90
403	159	19,28	160	18,75	159	18,01
183	190	15,42	198	14,64	194	15,06

Tabelle 2. Grundumsatzänderungen durch Pretiron.

Tier Nr.	Gewicht vor Behandlung g	O_2/kg pro Min. vor Behandlung	Gewicht nach Behandlung g	Gewichtsverlust g	O_2/kg pro Min. nach Behandlung	% Steigerung	Behandlungsdauer Tage	Gewicht nach Behandlung g	Gewichtsverlust g	O_2/kg pro Min. nach Behandlung	% Steigerung	Behandlungsdauer Tage
					75 MsE. Pretiron pro die.							
201	182	19,58	174	8	23,90	22,62	4					
44	231	17,11	218	13	23,85	39,39	3	214	17	22,27	30,15	4
244	194	18,20	179	15	23,46	28,90	3	182	15	20,51	12,69	4
390	254	18,78	206	48	26.04	38,60	3	211	43	20,66	10,01	4
257	199	18,12	177	22	25,04	38,19	3	178	21	21,71	19,81	4
261	170	19,39	165	5	24,24	25,01	3	163	7	23,10	19,13	4
					125 MsE. Pretiron pro die.							
125	202	19,13	198	4	26,41	38,05	4					
153	186	18,70	170	16	31,56	68,77	4					
152	198	19,63	173	25	30,63	56,03	4					
173	190	17,45	183	7	32,57	86,64	4					
174	188	17,80	183	5	27,40	53,93	4					
157	195	19,12	179	16	27,74	45,83	4					
161	162	19,10	148	14	30,85	63,40	4					
45	222	18,77	212	10	22,79	21,41	3	200	22	21,83	16,30	5
42	217	18,16	198	19	25,55	40,69	3	190	27	28,21	55,34	5

Tabelle 3 zeigt die Verminderung des Sauerstoffverbrauches nach Vorbehandlung der Tiere mit Digilanid, und zwar wurden sehr kleine Dosen Digilanid von 0,075 ccm pro kg gegeben. In den Versuchen haben wir die höchste Dosierung an Pretiron benutzt, nämlich 125 MsE. pro Tag, um bei der hierdurch bewirkten sehr starken Steigerung des Stoffwechsels noch Ausschläge durch die Digilanidbehandlung zu erhalten. Es geht aus den Versuchsprotokollen hervor, daß die Digilanidbehandlung bereits beim unbehandelten Tier eine Senkung des Sauerstoffverbrauches verursacht. Sie ist außerdem imstande, die Pretironwirkung auf den Sauerstoffverbrauch völlig auszuschalten.

Tabelle 3. Grundumsatzänderungen durch Digilanid.

Tier Nr.	Grundumsatz vor Behandlung			Gewicht in g						O_2-Verbrauch nach Minuten				O_2/kg in der Minute	% Steigerung	% Senkung
	a)	b)	Mittelwert	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	15	30	45	60			
Verhinderung der pretironbedingten Grundumsatzsteigerung durch Digilanid. 0,075 ccm/kg Digilanid am 1. und 4. Tag — 125 MsE./kg Pretiron am 2., 3., 4. und 5. Tag — Untersuchung am 6. Tag.																
151	20,54	18,67	19,60	192	206	202	192	195	191	50	110	180	244	21,28	+ 8,57	—
128	18,76	18,29	18,52	208	230	217	211	215	218	60	130	192	242	18,93	+ 2,21	— [1]
155	20,18	20,10	20,14	189	196	191	189	185	181	46	146	186	214	19,70	—	— 2,19
187	17,26	17,06	17,16	166	163	166	166	156	158	38	56	116	176	18,56	+ 8,15	—
156	20,18	19,64	19,91	178	183	181	190	185	182	48	108	160	224	20,40	+ 2,46	—
186	19,74	19,00	19,37	204	205	198	196	200	200	48	110	162	216	18,16	—	— 6,25
189	18,31	18,76	190,5	165	169	165	166	160	158	48	108	138	188	19,81	+ 3,98	—
0,075 ccm/kg Digilanid allein am 1. und 4. Tag — Untersuchung am 6. Tag.																
154	20,59	21,17	20,88	168	—	—	160		165	36	80	26	174	17,57	—	— 15,86
124	19,15	20,15	19,65	222	—	—	230		225	48	118	178	247	18,28	—	— 6,98
184	20,40	21,86	21,13	166	—	—	190		186	42	94	146	184	16,48	—	— 22,01
Gleichzeitig angesetzte Pretiron-Kontrollen. 125 MsE./kg Pretiron am 2., 3., 4. und 5. Tag — Untersuchung am 6. Tag.																
125	19,96	18,30	19,13	—	202	208	200	205	198	70	142	220	314	26,41	+ 38,05	—
152	19,44	19,82	19,63	—	198	193	190	195	173	56	126	216	318	30,63	+ 56,03	—
153	18,47	18,93	18,70	—	186	178	175	180	170	66	158	236	322	31,56	+ 68,77	—
157	18,63	19,61	19,12	—	195	184	185	190	179	62	134	218	298	27,74	+ 45,83	—
161	18,88	19,32	19,10	—	162	156	160	165	148	56	128	200	274	30,85	+ 63,40	—

[1]) 3h nach Untersuchung tot.

Tabelle 4 zeigt einige Vorversuche, in denen 0,5 ccm/kg Digilanid täglich verabreicht wurden und gleichzeitig die Dosierung an Pretiron 125 MsE. pro Tag betrug. Bei den Versuchstieren wurde der Grundumsatz am 3., 4., 5. und 6. Tag bestimmt. Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß mit der vorliegenden Digilaniddosierung in diesen Vorversuchen keine sichere Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch erzielt werden kann.

Tabelle 5 zeigt die Beeinflussung des Stoffwechsels durch hohe Digilaniddosen von 1,5 ccm pro kg. Gleichzeitig zeigt die Tabelle die Wirkung der Digilaniddosierung allein und die Wirkung in Kombination von 75 MsE. thyreotropem Hormon. Wir wählten in diesen Versuchen diese kleine Dosierung von thyreotropem Hormon, die an sich nur eine geringe Steigerung des Stoffwechsels verursacht, um mit Sicherheit eine Wirkung des Digilanids in dieser hohen Dosierung feststellen zu können. Tatsächlich zeigt sich auch, daß diese hohen Digilaniddosen bereits beim Tier an sich eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches um etwa 20% im Durchschnitt bedingen. Die niedrige Dosierung des Pretirons macht an sich ebenfalls eine Steigerung von etwa 10—20%. Es zeigt sich nun weiter beim Studium der Tabelle, daß die kombinierte Behandlung mit Digilanid und Pretiron in dieser vorliegenden Dosierung sich hinsichtlich der Steigerung des Sauerstoffverbrauches ungefähr summieren. Eine Hemmung des Sauerstoffverbrauches tritt durch diese hohen Digilaniddosen mit Sicherheit nicht ein.

Tabelle 6 zeigt schließlich einige Vorversuche, in denen täglich Digil-

Tabelle 4. Grundumsatzänderungen durch Digilanid.

0,5 ccm/kg Digilanid am 1. und 3. Tag — 125 MsE./kg Pretiron täglich.

Die Grundumsatzveränderungen werden in % gegen den Ausgangswert ausgedrückt.

Tier Nr.	Grundumsatz vor Behandlung a)	b)	Mittelwert	Gewicht in g 1. Tag	2. Tag	3. Tag	Grundumsatz am 3. Tag	%	Gewicht am 4. Tag g	Grundumsatz am 4. Tag	%	Gewicht am 5. Tag g	Grundumsatz am 5. Tag	%	Gewicht am 6. Tag g	Grundumsatz am 6. Tag	%
Digilanid + Pretiron.																	
26	16,3	16,04	16,17	242	240	245	18,89	+ 16,63	231	22,79	+ 40,94	236	18,05	+ 11,62	232	21,04	+ 30,11
23	16,9	15,84	16,37	305	320	298	19,32	+ 18,02	275	20,12	+ 22,90	280	20,46	+ 24,98	298	17,55	+ 7,2
Pretiron-Kontrollen.																	
44	17,29	16,93	17,11	216	231	218	18,39	+ 7,48	218	23,85	+ 39,39	214	22,27	+ 30,15	225	20,88	+ 22,03
201	19,96	19,03	19,58	182	180	175	22,09	+ 12,81	166	22,48	+ 14,81	174	16,26	− 17,09	174	23,90	+ 22,62

Tabelle 5. Grundumsatzänderungen durch Digilanid.

Tier Nr.	Grundumsatz vor Behandlung			Gewicht in g						O_2-Verbrauch in Minuten				O_2/kg in der Minute	% Steigerung	% Senkung
	a)	b)	Mittelwert	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	15	30	45	60			
Verstärkung der pretironbedingten Grundumsatzsteigerung durch Digilanid. 1,5 ccm/kg Digilanid am 1. und 4. Tag — 75 MsE./kg Pretiron am 2., 3., 4. und 5. Tag — Untersuchung am 6. Tag.																
226	18,89	17,27	18,08	232	—	—	220	—	210	68	140	212	282	22,59	24,94	—
27	16,90	16,90	16,90	187	—	—	190	—	171	66	134	192	254	24,75	46,45	—
256	17,33	18,71	18,02	190	172	185	191	176	185	68	132	190	280	25,18	39,73	—
260	19,41	19,25	19,33	190	182	176	172	172	174	66	132	200	292	27,96	44,64	—
1,5 ccm/kg Digilanid allein am 1. und 4. Tag — Untersuchung am 6. Tag.																
263	18,11	18,11	18,11	215	198	201	190	—	—	52	104	168	248	21,75	20,09	—
259	20,97	19,94	20,45	174	162	162	156	—	156	60	144	200	240	25,64	25,47	—
127	18,68	19,48	19,08	220	210	210	207	—	—	62	128	206	278	21,74	13,93	—
258	18,94	18,01	18,47	196	187	210	190	—	190	36	78	128	278	23,39	26,63	—
126	19,62	21,39	20,50	185	186	185	177	—	—	66	114	170	232	21,28	3,8	—
Gleichzeitig angesetzte Pretiron-Kontrollen. 75 MsE./kg Pretiron am 2., 3., 4. und 5. Tag — Untersuchung am 6. Tag.																
244	18,20	18,20	18,20	194	—	—	179	—	182	54	120	184	224	20,51	12,69	—
390	19,26	18,30	18,78	254	—	—	206	—	211	64	136	206	269	20,66	10,01	—
261	18,29	20,49	19,39		170	168	165	165	163	46	114	170	226	23,10	19,13	—
257	18,06	18,17	18,12		199	195	177	185	178	56	108	172	232	21,71	19,81	—

Tabelle 6. Grundumsatzveränderung durch Digilanid.

Tier Nr.	Grundumsatz vor Behandlung a)	b)	Mittelwert	Grundumsatz am 2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1,5 ccm/km Digilanid + 250 M·E. Pretiron pro kg am 1., 2., 3. und 4. Tag									
30	20,3	19,1	19,7	24,7	25,8	24,5	27,2	24,2	24,2
240	17,7	18,5	18,1	20,6	25,1	25,7	24,4	21,4	20,4
29	18,7	19,1	18,9	21	±				
Pretiron-Kontrollen									
203	20,4	20,2	20,3	22	25,5	28	23,25	26,74	21,9
24	17,0	17,1	17,05	22,87	11,05	±			
210	19,2	19,6	19,4	23,4	22,7	21	±		

anid oder Pretiron verabreicht wurde, und zwar benutzten wir hierbei eine sehr hohe Pretirondosierung von 250 MsE. pro kg und eine Digilanidkonzentration von 1,5 ccm pro kg. Die Folge dieser hohen Dosierung ist, daß von den untersuchten 6 Tieren 3 im Laufe der Untersuchung eingingen. Irgendeine sichere Beeinflussung des Sauerstoffverbrauches kommt bei dieser Versuchsanordnung nicht zum Vorschein. Es empfiehlt sich nicht, die Stoffwechseluntersuchung bei dem Meerschweinchen täglich vorzunehmen, da die Tiere durch die Einschaltung der täglichen Hungerperiode zu sehr belastet werden.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

In Abb. 1 haben wir in übersichtlicher Form den Sauerstoffverbrauch normaler Meerschweinchen zusammengestellt. Es handelt sich um Bestimmungen an normalen unbehandelten Tieren; die obere Säulenreihe und die untere Säulenreihe wurden an demselben Tier mit einer Differenz von 3 Tagen bestimmt. Es geht aus der Abbildung hervor, daß mit geringen Ausnahmen die meisten Tiere auch bei Wiederholung der Bestimmung des Sauerstoffverbrauches nach 3 Tagen annähernd dieselben konstanten Werte zeigen wie vorher. Einzelne Tiere, die aus der Reihe herausfallen, d. h. die mehr als 8 % Unterschied gezeigt haben, wurden für die Versuche nicht verwendet.

In mehreren Versuchen haben wir bei normalen Tieren den Grundumsatz täglich bestimmt und hierbei größere Schwankungen der Werte festgestellt als bei Zwischenschaltung von mehreren Tagen. Wir führen das darauf zurück, daß die Tiere durch die Hungerperiode, die jeder Grundumsatzbestimmung vorausgeht, bei täglicher Wiederholung zu stark geschädigt werden, als daß diese Methode anwendbar wäre.

In Abb. 2 sind die Grundumsatzbestimmungen nach thyreotropem Hormon mit und ohne Digilanid zusammengestellt. Es geht aus der Abbildung deutlich hervor, daß die Zufuhr kleiner Dosen Digilanid, und zwar 0,075 ccm pro kg am 1. und 4. Tag, imstande sind, die Erhöhung des Grund-

umsatzes, die sonst nach thyreotropem Hormon konstant eintritt, zu verhüten. Während sonst in 5 Versuchen die Erhöhung des Grundumsatzes nach thyreotropem Hormon 39—69 % betrug, finden wir bei Vorbehandlung

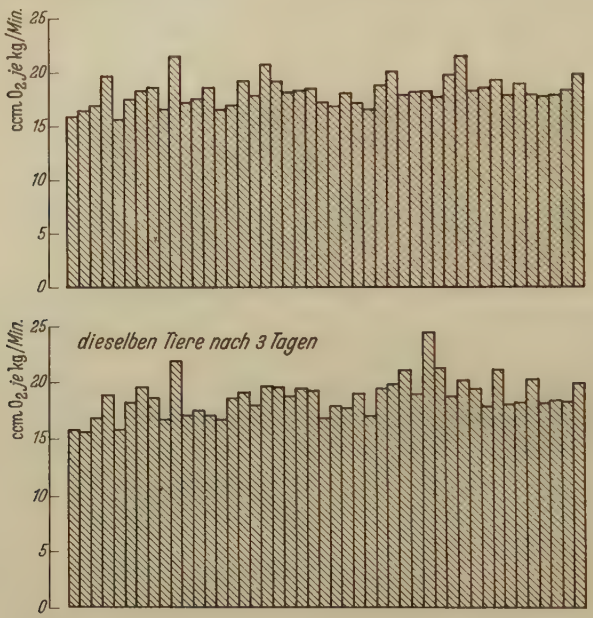


Abb. 1. Sauerstoffverbrauch unbehandelter Meerschweinchen.

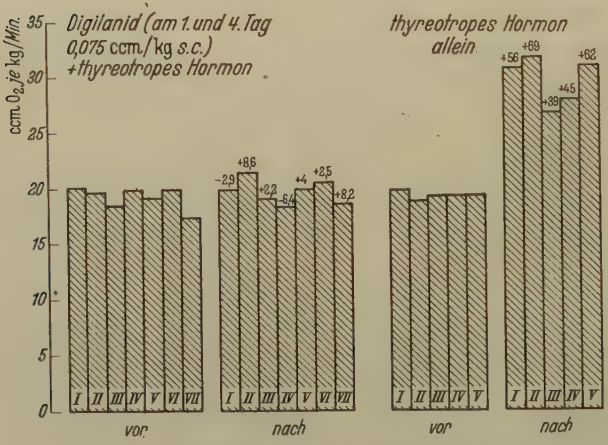


Abb. 2. Sauerstoffverbrauch vor und nach Behandlung.

mit Digilanid als höchsten Wert 8,6 % und als niedrigsten — 6,4 %. Diese Beobachtung stimmt also völlig mit den Angaben in der Literatur über die Hemmung der Oxydation durch Digitalissubstanzen überein.

Die hemmende Wirkung kleiner Digilaniddosen auf die Aktivierung der Schilddrüse geht auch aus dem Verhalten der Gewichte der Tiere hervor; die Behandlung mit thyreotropem Hormon allein führt zu einem Gewichtsverlust der Tiere. Dieser Gewichtsverlust ist in den Versuchen, in denen neben dem thyreotropen Hormon Digilanid verabreicht wurde, wesentlich geringer als bei Behandlung mit thyreotropem Hormon allein. Auch hierin drückt sich die hemmende Wirkung des Digilanids auf die Schilddrüse aus.

Der Einfluß größerer Digitalissubstanzen, und zwar der 20fachen Konzentration, auf den Grundumsatz geht aus Abb. 3 hervor. Es handelt sich hierbei um Versuche, in denen einmal kleine Dosen von thyreotropem Hormon gegeben wurden, die den Grundumsatz von 10—20 % steigern, und zweitens um gleichartige Versuche, in denen aber die Tiere am 1. und 4. Tag mit Digilanid vorbehandelt wurden. Die Grundumsatzsteigerung hat hierbei Werte von 25—46 % erreicht. Derartig hohe Digitaliskonzentrationen, wie sie in diesen Versuchen benutzt wurden, haben also den umgekehrten Effekt wie kleine Digitalisdosen, d. h. sie sind imstande, den Grundumsatz ganz außerordentlich stark zu erhöhen.

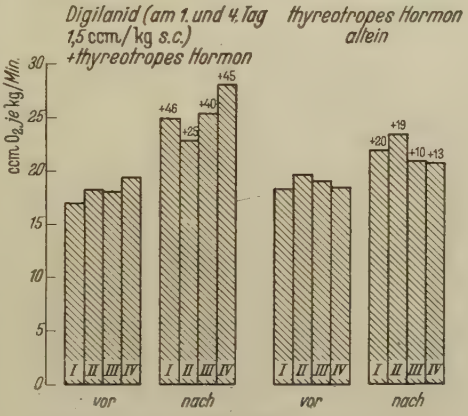


Abb. 3. Sauerstoffverbrauch vor und nach Behandlung.

Bei genauerer Betrachtung der Tabelle ersieht man, daß wir in den vorliegenden Versuchen kleine Dosen an thyreotropem Hormon gegeben haben, um eine weitere Erhöhung durch Digitalissubstanzen mit Sicherheit nachweisen zu können. Diese kleinen Dosen haben den Stoffwechsel um etwa 20 % im Durchschnitt gesteigert. Eine Steigerung ähnlichen Ausmaßes erhält man bei Behandlung der Tiere mit Digilanid allein in den angewandten Konzentrationen und es zeigt sich nun bei Betrachtung der Tabelle, daß in Kombinationsversuchen mit Digilanid und thyreotropem Hormon eine Summierung der Wirkung beider Einzelkomponenten auf den Grundumsatz eintritt.

Aus den vorstehenden Untersuchungsergebnissen können wir zwei Schlüsse ziehen, die mit den bisherigen Angaben der Literatur in Übereinstimmung stehen:

1. Kleine Digitalisdosen wirken der Schilddrüse entgegen, indem sie die Aktivierung der Schilddrüse durch das thyreotrope Hormon hemmen. Diese kleinen Dosen haben an sich auf den Grundumsatz normaler Tiere keine Wirkung.

2. Eine 20fach höhere Dosierung an Digilanid bewirkt bereits an sich allein eine Steigerung des Grundumsatzes. Diese Steigerung summiert sich mit derjenigen, die durch thyreotropes Hormon erzeugt wird, wenn beide Substanzen zusammen verabreicht werden. Große Dosen Digilanid, die schon nahe an die toxische Dosis heranreichen, wirken also im gleichen Sinne wie die Schilddrüse.

Diese Ergebnisse zeigen also, daß die oben besprochenen Versuche über die Wirkung der Digitaliskörper auf die Oxydation von Gewebsschnitten wie Herz, Muskel usw. keinen Ausnahmefall ihrer Stoffwechselwirkung darstellt, sondern daß die Wirkung der Digitalissubstanzen, wie nach den oben besprochenen klinischen Befunden zu erwarten war, sich auch im Gesamtstoffwechsel des Organismus ausdrückt.

Was nun die Wirkung kleiner Digitalisdosen betrifft, so können wir diese Wirkung, die in einer Hemmung der Oxydation besteht, als die physiologische ansehen. Nach den ausgezeichneten Untersuchungen von Gremels tritt als Zeichen der Herzinsuffizienz lange vor Verschlechterung der mechanischen Arbeitsleistung eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches auf. Genau so ist das erste Zeichen eines wirksamen Einflusses der Digitalissubstanzen auf die Herzinsuffizienz in der Verringerung des erhöhten Sauerstoffverbrauches zu sehen. Da die Wirkung dieser therapeutischen Digitalisdosen auf das Herz und auf die Herzarbeit eine günstige ist, können wir annehmen, daß in der Herabsetzung des Sauerstoffverbrauches ein Zeichen einer besseren Sauerstoffausnutzung vorliegt, denn wir wissen aus den Untersuchungen von Gremels und Starling (40), daß das Herz keine Arbeit von Dauer auf anaerober Grundlage vollbringt. Das Herz ist unmittelbar auf die aus den Oxydationen stammenden Energien angewiesen.

Über den Mechanismus der Digitaliswirkung auf den Stoffwechsel läßt sich nach den Untersuchungen von Gremels und Mitarbeitern (40) ein gewisser Rückschluß ziehen. Gremels und Mitarbeiter haben bereits früher gezeigt, daß Azetylcholindauerinfusionen am Herz-Lungen-Präparat einen hemmenden Einfluß auf den Sauerstoffverbrauch haben. Sie sehen diesen Mechanismus durch die Natur des Azetylcholins als Vagusüberträgerstoff, als zur nervösen Steuerung des Stoffwechsels gehörig an. Gremels und Mitarbeiter haben zeigen können, daß Vorbehandlung mit Strophanthin oder Digitoxin die Azetylcholinwirkung außerordentlich stark im Maximum um etwa das 1000fache steigern kann. Die Herabsetzung des Sauerstoffverbrauches durch Strophanthin und Digitoxin erfolgt über das Azetylcholin als Überträgerstoff der Vaguswirkung. Am Froschherzen zeigt Strophanthin + Azetylcholin eine erhebliche Verstärkung der Wirkungsintensität und eine Verlängerung der Wirkungsdauer. Die Tatsache, daß der Sauerstoffverbrauch, der durch große Adrenalin- oder Sympatolmengen erhöht werden kann, durch Strophanthin

gehemmt wird, ist durch die Steigerung der Vagus- bzw. Azetylcholinwirkung zu erklären.

Wir haben mit dem ersten Teil unserer Untersuchungen also festgestellt, daß die Digitalissubstanzen auch hinsichtlich ihrer Stoffwechselwirkung in Parallele zur Wirkung des Thymushormons gesetzt werden können. Ob diese Wirkung des Thymushormons auch mit dem Vagusüberträgerstoff zusammenhängt, kann vorläufig nicht entschieden werden. Immerhin ist es aber von größtem Interesse, daß in der klinischen Literatur schon seit vielen Jahren Beziehungen des Thymus zum Vagustonus angenommen worden sind. So ist der Thymustod beim Status thymicolymphaticus besonders von Eppinger (41) und Mitarbeitern unter diesem Gesichtspunkt betrachtet worden. Eppinger (41) und Mitarbeiter stehen auf dem Standpunkt, daß das klinisch wichtigste Symptom beim Status thymico-lymphaticus die Vagotonie ist.

Die Tatsache, die wir als zweites Ergebnis unserer Untersuchungen festgestellt haben, daß nämlich größere Dosen von Digilanid die entgegengesetzte Wirkung auf den Stoffwechsel haben wie kleine, war ebenfalls nicht unbekannt. Wir haben bereits einleitend hierzu Stellung genommen und möchten hier betonen, daß nach Gremels (42) hohe Strophanthindosen am normalen Herzen eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches erzeugen. Auch größere Azetylcholinmengen steigern den Stoffwechsel. Der Mechanismus der Übertragung der Digitaliswirkung wird also vielleicht ein ähnlicher sein wie bei den kleinen Dosen. Es ist bekannt [Abelin (43)], daß alle sympathikuserregenden Mittel den Stoffwechsel stark erhöhen. Verschiedene Autoren geben sogar an [von Issekutz und Mitarbeiter (44)], daß auch die Schilddrüsenwirkung vorwiegend, wenn nicht ausschließlich, auf dem Weg über das Zentralnervensystem geht. Auch Schittenhelm und Eisler (45) nehmen einen direkten Zusammenhang zwischen Thyroxin und Zentralnervensystem an.

Die grundumsatzerhöhende Wirkung hoher Digitalisdosen kann aber auch die Folge einer Herzschädigung sein. So wird in der Literatur angegeben, daß z. B. bei der Thyreotoxikose eine Grundumsatzsteigerung bis zu 100% noch als mechanische Folge der Kreislaufstörung aufgefaßt werden kann. Böger und Wetzler (46) kommen zu der Auffassung, daß die Stoffwechselstörung bei der Thyreotoxikose eine Folge der Kreislaufstörung ist, daß also das pathologisch-genetische Geschehen bei der Thyreotoxikose sich primär am Kreislauf auswirkt und erst die Stoffwechselstörung in der Zelle nach sich zieht. Der Kreislaufstörung liegt eine Störung des vegetativen Nervensystems zugrunde. Diese Störung kann natürlich auch primär hormonal sein, sie kann aber auch durch eine Störung im vegetativen Nervensystem eingeleitet werden. Es ist nach diesen Befunden durchaus mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die stoffwechselsteigernde Wirkung sehr großer Digitalisdosen eine Folge der dadurch gesetzten Herzschädigung, d. h. eine Folge der Kreislaufstörung ist. Die

zur Auslösung dieser Schädigung benutzten Digitalisdosen liegen, wie erwähnt, sehr nahe an der toxischen Dosis. Die stoffwechselsteigernde Wirkung dieser Dosierung hat mit der therapeutischen Wirksamkeit der Digitalisglykoside also nichts zu tun.

Zusammenfassung.

Nach einer Übersicht der Literaturangaben über die Wirkung von Sterinderivaten auf den Grundumsatz wird festgestellt, daß namentlich Digitalisderivate Wirkungen auf den Grundumsatz zeigen. In eigenen Versuchen werden diese Befunde bestätigt und ausgebaut. Es ergibt sich, daß kleine Digitalisdosen imstande sind, den durch thyreotropes Hormon erhöhten Grundumsatz zu senken, große Digitalisdosen wirken dagegen im gleichen Sinne wie das thyreotrope Hormon. Die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens wird erklärt und auf die Parallele zwischen der Digitaliswirkung und der Wirkung des Thymushormons auf den Grundumsatz hingewiesen.

Literatur.

1) Schulte: Erscheint 1941 in Biochem. Z. — 2) Nitschke: Z. exper. Med. **65**, 637, 651 (1929); Mschr. Kinderhk. **47**, 530 (1930). — 3) Suzuki: Arch. klin. Chir. **175**, 409 (1933). — 4) Schliephake: Med. Welt 1936, Nr. 5. — 5) Zondek u. Mitarb.: Klin. Wschr. **1925**, IV, Nr. 31. — 6) Bomskov, Hölscher u. Hartmann: Der Thymustod. Erscheint 1941. — 7) Bomskov u. Hölscher: Die Thymektomie. Erscheint 1941. — 8) Kotake: Sci. Pap. Ins. phys. chem. Res. Tokyo **36**, 106 (1939). — 9) Butenandt u. Gallagher: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 1866 (1939). — 10) Weese, Digitalis. Leipzig, Verlag Thieme, 1936. — 11) Weese u. Wiegand: Chemie und Medizin II, 178 (1934). — 12) Frühauf, Theodor: Diss. Münster 1932. — 13) Buddeberg, Hans: Diss. Münster 1933. — 14) Haarmann, W.: Biochem. Z. **255**, 103, 142 (1932). — 15) Freye, Maria: Diss. Münster 1935. — 16) Gremels, Hans: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 625 (1937). — 17) Averbeck: Diss. Münster 1932. — 18) Pötting: Diss. Münster 1933. — 19) Többen: Diss. Münster 1933. — 20) Schäfer: Diss. Münster 1934. — 21) Leppelmann: Diss. Münster 1934. — 22) Genuit, H., u. W. Haarmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 471 (1940). — 23) Gotsch, Karl: Z. Klin. Med. **192**, 631 (1937). — 24) Klein, O., u. K. Gotsch: Z. exper. Med. **101**, 219 (1937). — 25) Kurt, Salomon u. Otto Risser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 450 (1935). — 26) Eismayer, G., u. H. Quinke: Ebenda **150**, 308 (1930). — 27) Victor, Joseph: Prod. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **30**, 399 (1932). — 28) Freund: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 224, 416 (1936). — 29) Hartstein, Eduard: Diss. Leipzig 1936. — 30) Linzel, Wilhelm: Diss. Münster 1933. — 31) Eckey u. Vorwerk: Arch. Kreisl.forsch. **3**, 325 (1938). — 32) Freund: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **157**, 122 (1930). — 33) Niccolini, P. M.: Arch. internat. Pharmacodynam. **31**, H. 1/2, 71 (1925). — 34) Mac Intyre, A. D.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 274 (1928). — 35) Hahn, R. G., u. H. Rosenblum: Amer. Heart J. **8**, 235 (1932). — 36) Nylin, Gustac: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **23**, 472 (1938). — 37) Staar, I., G. I. Gamble, A. Margolis, I. S. Doval c. s.: J. clin. Invest. (Am.) **16**, 799 (1937). — 38) Anthony, A., A. Bierling u. L. Clemens: Beitr. Klin. Tbk. **83**, 241 (1933). — 39) Bomskov u. Spiegel: Endokrinologie **23**, H. 4/5, 225 (1941); Gremels c. s.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 625 (1937). — 41) Eppinger c. s. u. Hess: Vagotonie 1910. — 42) Gremels: Arch. f. exper. Path. **169**, 689—723 (1933). — 43) Abelin: Biochem. Z. **137**, 273 (1923). — 44) v. Issekutz c. s.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 673, 685 (1937). — 45) Schittenhelm u.

Eisler: Klin. Wschr. **1932**, S. 1092. — 46) Böger u. Wetzler: Z. exper. Med. **102**, 134 (1938). — 47) Uraki, Z.: J. Biochem. (e.: Jap.) **18**, 207 (1933). — 48) Fukui, Th.: Arb. d. med. Fakultät Okayama **5**, 145. — 49) Bauer u. Buttu: Z. Klin. Med. **122**, 601 (1932). — 50) Webster, Pfiffner u. Swingle: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **28**, 1021 (1931). — 51) Koehler, Ebenda **28**, 989 (1931). — 52) Shinobe: Fol. endocrin. jap. **7**, 41 (1931). — 53) Franke, M.: C. r. Soc. Biol. Paris **109**, 1295 (1932). — 54) Hoffmeister: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 637 (1938). — 55) Viczor u. Anderson: Amer. J. Physiol. **122**, 296 (1938). — 56) Ritzmann c. s.: Ref. Rona **99**, 61 (1937). — 57) Piacentini u. Guercio: Arch. Sci. biol. (It.) **24**, 239 (1938). — 58) Geriola, F.: Endocrinol. **13**, 161 u. 206 (1938). — 59) Gessler: Arch. internat. Pharmacodynam. **54**, 263 (1936). — 60) Virgion, P., u. Fr. Guercio: Arch. Sci. biol. (It.) **24**, 239 (1926). — 61) Lederer, J.: Rev. belg. des séances méd. **11**, 320 (1939). — 62) Geriola, Fel.: Gi. Clin. med. **19**, 1123 (1936). — 63) Piacentini, V., u. F. Guerioco: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **13**, 681 (1938). — 64) Kenyon c. s.: Endocrinology **23**, 135 (1938). — 65) Zavadovsky c. s.: Bull. Biol. exper. Med. URSS. **3**, 119 (1937). — 66) Zain, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 486 (1939). — 67) Starr, Paul, u. Helen Patton: Endocrinology **18**, 113 (1934). — 68) v. Plehwe, H. J.: Med. Klin. **1939**, II, 1603.

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. E. Rehn.)

Über die Wirkung von Sterinderivaten auf den Stoffwechsel.

II. Mitteilung: Über die Wirkung der Digitalissubstanzen auf Leber-, Herz- und Muskelglykogen*).

Von

Christian Bomskov und **Kurt Nikolai von Kaulla.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juli 1941.)

Wir haben in mehreren vorhergehenden Arbeiten zeigen können, daß sich aus dem Thymus eine lipoidlösliche stabile Substanz herstellen läßt, die sehr stark in den Kohlehydrathaushalt des Körpers eingreift. Wir haben zeigen können, daß der Organismus diese Substanz, die wir als das spezifische Thymushormon auffassen, unter dem Einfluß des diabetogenen Hormons der Hypophyse produziert, und wir haben festgestellt, daß alle Wirkungen der Substanz mit den Wirkungen des diabetogenen Hormons der Hypophyse identisch sind. Beide Hormone erzeugen bei übermäßiger Zufuhr eine starke Abnahme des Leber- und Herzglykogens. In beiden Fällen tritt eine Glucosurie auf. Eine der charakteristischen Wirkungen des Thymushormons besteht in der Beeinflussung der Oxydationen des Organismus. Das Thymushormon ist in der Lage, einen künstlich hormonal erhöhten Grundumsatz zu senken und es erzeugt im Tierversuch nach Untersuchungen aus dem Bickelschen (1) Institut eine sogenannte dysoxydative Carbonurie, d. h. einen Zustand, in dem ein Unvermögen zur Verbrennung der Kohlehydrate besteht.

Das umgekehrte Krankheitsbild, nämlich den Ausfall der Thymusfunktion, haben kürzlich Bomskov und Hölscher (2) beschrieben. Im Gegensatz zu einer ganzen Anzahl von Literaturangaben konnte hierbei festgestellt werden, daß die charakteristischen Ausfallserscheinungen der Thymektomie sich insbesondere an der Muskulatur äußern. Als hauptsächlichste Ausfallserscheinung tritt ein Tonusverlust und eine Muskel-

* Wir danken an dieser Stelle dem Herrn Oberpräsidenten und Gauleiter von Schleswig-Holstein, Hinrich Lohse, für Mittel, die uns die Durchführung dieser Arbeit ermöglichten. Wir möchten ebenfalls der Forschungsgemeinschaft der deutschen Wissenschaft und dem Reichsforschungsrat für die Erteilung eines Forschungsstipendiums danken.

atrophie auf, die am Herzen zu schweren Veränderungen führt und einen Herztod durch Muskelinsuffizienz des Herzens herbeiführt.

Sowohl bei Zufuhr des Thymushormons wie bei Ausfall der Thymusfunktion ist im Tierversuch die Wirkung auf das Herz durchaus in den Vordergrund zu stellen. Übermäßige Zufuhr des Thymushormons erzeugt im Tierversuch einen Zustand, in dem bereits kleine äußere Anlässe, wie eine Chloroformnarkose, zur Auslösung eines akuten Herztodes genügen. Es ist dies ein ähnlicher Zustand, wie wir ihn aus der Klinik beim sogenannten Status thymico-lymphaticus kennen. Bomskov, Hölscher und Hartmann (3) haben über diesen künstlich hervorgerufenen Thymustod kürzlich berichtet und die Auffassung vertreten, daß der Thymustod zustande kommt durch einen übermäßigen Abbau des Herzmuskelglykogens infolge der Thymuswirkung. Dieser Verlust des Herzglykogens wäre für einen normalen Organismus nicht von größerer Bedeutung, da das Herz normalerweise seinen eigenen Glykogenbestand nicht angreift. Wir wissen aber, daß bei Sauerstoffmangel das Herzglykogen sehr rasch verbraucht wird, wobei es zu einem akuten Herzstillstand kommt. Ein solcher Zustand des Sauerstoffmangels, d. h. der Hemmung der Oxydationen, wird aber durch das Thymushormon erzeugt, so daß diese Hemmung der Oxydationen in Kombination mit dem Glykogenverlust des Herzens bei Belastung sehr schnell zum akuten Herztod führt.

Die Tatsache, daß das Thymushormon lipoidlöslich ist und gegenüber chemischen Eingriffen sehr stabil ist, hat es nahegelegt, eine Reihe von Sterinderivaten in ihrer Wirkung auf den Glykogenhaushalt, insbesondere des Herzens, näher zu untersuchen, um vielleicht auf diese Weise eine Substanzengruppe zu finden, die ähnliche Wirkungen auslöst wie das Thymushormon.

Wirkungen von Sterinderivaten auf den Kohlenhydrathaushalt sind nun schon sehr lange bekannt. Über die Gallensäuren weiß man, daß sie nach den Untersuchungen von Maeda (4) den Glykogenansatz in der Leber fördern. Fuzita (5) gibt an, daß Hexosezufuhr bei gleichzeitiger Anwesenheit von Gallensäuren eine verstärkte Glykogenbildung in der Kaninchenleber hervorruft. Ishihara (6) gibt an, daß bei hungernden Ratten durch Injektion von Natriumcholat die Glykogenwerte höher liegen als bei nur hungernden Tieren. Tsuji (7) sieht nach Zufuhr von Gallensäuren eine Hypoglykämie. Die Gallensäuren sollen den Sympathicus lähmen und bei vagotomierten Tieren den Parasympathicus reizen. Molfino (8) und Mitarbeiter fanden nach Dehydrocholsäure und nach cholsaurem Natrium beim gesunden Menschen keinen Einfluß auf den Blutzucker. Bei Diabetikern war die Reaktion unterschiedlich. Teraoka (9) gibt an, daß kleine Mengen von Natriumcholat die Lebermilchsäure vermindern. Dvoracek (10) fand, daß Injektion von 20 ccm 20%iger Dehydrocholsäure eine Hyperglykämie erzeugt, die bald zur Norm abklingt.

Auch die Wirkung der weiblichen Sexualhormone ist hinsichtlich der Beeinflussung des Kohlehydrathaushalts studiert [Zunz-La Barre (11), Schumann (12)]. Isakon (14) gibt an, daß bei erwachsenen weiblichen Meerschweinchen nach 100 M.-E. Follikulin der Blutzucker unverändert ist, bei 1000 M.-E. tritt eine

Steigerung von 25%, bei 2000 M.-E. eine Steigerung von 41% auf. Wenn 4000 M.-E. über 42 Tage gegeben werden, tritt eine dauernde Erhöhung des Blutzuckers ein.

Auch Gennaro und Vasta (13) konnten bei Kaninchen nach Injektion von Follikelhormon eine Hyperglykämie erzeugen. Sehr hohe Dosen dagegen senken den Blutzucker. Auf der anderen Seite gibt Tortora (41) an, daß bei Kaninchen die Injektion von Follikelhormon während einer 12stündigen Hungerperiode zu einer Hypoglykämie führt.

Über die Wirkung des Progesterons beim Hund haben Zunz und La Barre (42) berichtet. Sie finden, daß 0,5 – 1,5 mg pro kg Progesteron den Blutzucker steigert. Die Reaktion verläuft vermutlich über die Hypophyse.

Mehrere Angaben der Literatur befassen sich mit der Wirkung des Testosterons auf den Kohlehydrathaushalt. Ventura (43) gibt an, daß bei normalen Menschen kein großer Einfluß auf den Kohlehydrathaushalt beobachtet wird, das Testosteron beeinflußt jedoch bei Zuckerkranken vor allem in Kombination mit Insulin die diabetische Stoffwechsellage günstig. Fichera (44) hat festgestellt, daß Testosteron im Tierversuch den Blutzucker steigert und zu einer Abnahme des Leberglykogens führt. Die verabreichten Dosen betrugen 1 – 5 mg Testosteronpropionat pro kg. Zu umgekehrtem Ergebnis sind Ratheri und Turjaff (45) gekommen, die dem Testosteron beim Meerschweinchen eine blutzuckersenkende Wirkung zuschreiben. Sehr intensiv hat sich Heinrich Schumann mit der Wirkung der männlichen Hormone auf den Glykogenstoffwechsel beschäftigt. Er stellt fest, daß bei nicht kastrierten männlichen Tieren durch Testosteron eine Glykogenvermehrung im Herzmuskel von 478 mg auf 819 mg eintritt. Bei kastrierten Tieren, bei denen der Glykogengehalt des Herzmuskels absinkt, kann der normale Herzglykogengehalt durch Injektion von Testosteron wieder erzielt werden und sogar ein Ansteigen über die Norm erreicht werden.

Nach den vorliegenden Angaben sind zweifellos Wirkungen von Sterinderivaten auf den Kohlehydrathaushalt festgestellt. Es geht jedoch aus den Beobachtungen hervor, daß einmal die Wirkungen schwankend oder nur geringfügig sind, und daß zweitens die zur Erzielung dieser Wirkungen benötigten Dosen sehr hoch liegen.

Neben diesen bekannteren Sterinderivaten gibt es aber noch eine weitere Gruppe von Sterinabkömmlingen, die insbesondere durch ihre Wirkung auf das Herz gekennzeichnet sind und die schon hinsichtlich dieser Wirkung der Thymuswirkung näherstehen als die anderen Sterinderivate. Es sind dies die Digitalissubstanzen.

Wir haben bereits an anderer Stelle ausgeführt, daß zwischen der Wirkung der Digitalissubstanzen und der Wirkung des Thymushormons gewisse Parallelen bestehen. Wir erinnern hier nur an die schon bei Weese (15) beschriebene Wirkung der Digitalissubstanzen auf die quergestreifte und glatte Muskulatur, wir erinnern an die Tatsache, daß die Hauptwirkung der Digitalissubstanzen im Stoffwechsel des Herzens in einer Senkung der Oxydationsvorgänge, d. h. in einer Senkung des Sauerstoffverbrauches zu suchen ist [Gremels (16)]. Wir selbst haben bestätigen können, daß auch bei der Messung des Stoffwechsels am Gesamtorganismus kleine Digitalisdosen den Grundumsatz in derselben Weise senken wie Thymushormon [Bomskov, von Kaulla und Maurath (17)].

Diese Beispiele zeigen, daß zweifellos Anhaltspunkte zwischen Digitaliswirkung und Thymuswirkung gegeben sind. Es tritt nun an uns die Frage heran, ob die Wirkung der Digitalissubstanzen auf den Kohlehydrathaushalt auch in derselben Richtung liegt wie die Wirkung des Thymushormons. Wir haben hierbei vor allen Dingen diese Substanzen auf das Herzglykogen untersucht. Denn gerade diese Wirkung ist, wie wir bereits oben erwähnten, eine derjenigen Wirkungen, die wir für das Thymushormon als charakteristisch ansehen.

Untersuchungen über die Wirkungen der Digitalissubstanzen auf den Kohlehydrathaushalt liegen bereits von verschiedener Seite vor.

In einer ganzen Reihe von Arbeiten wird nach Zufuhr von Digitalissubstanzen beim Tier eine verstärkte Glykogenablagerung im Herzen und in der Leber gefunden. So gibt D'Alessandria (18) an, daß nach einer histologischen Methode beim Kaninchen nach Verabreichung von Digitalis im Herzen eine verstärkte Glykogenablagerung nachweisbar ist. Lasch und Triger (19) sahen nach sechstägiger Verabreichung von 0,0017 mg Strophanthin subcutan auf 100 g Gewicht beim Meerschweinchen eine verstärkte Ablagerung von Glykogen im Herzen und in der Leber. F. Hahn (20) hat bei Tauben nach dreimal 0,1 mg Digitoxin eine Erhöhung von Herz- und Leberglykogen festgestellt. Die Steigerung des Herzglykogens betrug 100%, diejenige des Leberglykogens war geringer. Die benutzten Dosen sind sehr hoch, sie betragen weit über 50% der Dosis letalis.

Die Mehrzahl der Autoren findet in ihren Untersuchungen über den Einfluß der Digitalissubstanzen auf den Glykogenhaushalt eine Senkung der Glykogenreserven. Liebig (21) hat bei 0,2 g Digalen oder Digipurat intravenös nach 45 bis 120 Minuten eine Senkung des Glykogengehaltes im Herzen von 17%, im Muskel von 32% und in der Leber von 50% festgestellt. Daneben bestand eine Hyperglykämie. Die Reaktion war nach 1 Stunde abgeklungen. Strophanthin senkt beim Kaninchen in einer Dosis von 0,05—0,15 mg pro kg subcutan nur das Herzglykogen. Das Muskelglykogen ist erhöht, Leberglykogen und Blutzucker normal. Haendel und Munilla (22) konnten beim Hund nach Verabreichung von Digitalissubstanzen eine Senkung des Herzglykogens mit dem Präparat Digalen in Dosen von 2—8 ccm feststellen. Muskel- und Leberglykogen waren unbeeinflußt. Auch der Blutzucker der Tiere war normal.

Eine Wirkung der Digitalissubstanzen auf den Blutzucker ist öfter beschrieben, so von Veil und Heilmeyer (23), Ginsburg (24). Es liegen ebenfalls in der Literatur zwei Bemerkungen über das Auftreten von Glucosurie nach Zufuhr von Digitalissubstanzen vor, und zwar von Beco und Plumier (25) und von Beco (26).

Methodik der Versuche.

Wir benutzten für die Versuche ausgewachsene Ratten, deren Gewicht jeweils aus den Tabellen hervorgeht. Das Geschlecht der Tiere geht ebenfalls aus den Tabellen hervor. Die Tiere erhielten die gewöhnliche Kost unserer Tierzucht. Wir benutzten für die Fütterung der Ratten eine Kostform von Gudjonsson, die sämtliche nötigen Nahrungsbestandteile, darunter auch sämtliche Vitamine und Mineralstoffe in genügender Menge, enthält. Die Temperatur des Rattenstalles betrug 20°. Die Tiere erhielten außer der genannten Kostform zweimal wöchentlich Gemüse und einmal wöchentlich Fleischabfälle.

Als Digitalispräparate benutzten wir das Digilanid Sandoz, das in folgendem Lösungsmittel gelöst ist: 460 g 96%igem Alkohol, 400 g Glycerin auf 1 Liter Wasser.

Zur Verwendung kam weiter das Digitoxin Roche, das in 50%igem Alkohol gelöst wurde. Außerdem wurde das Digitoxigenin Merck, für dessen Überlassung wir der Firma Merck an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank aussprechen möchten, benutzt. Die Substanz wurde in 96%igem Alkohol gelöst. Zur Verwendung kam schließlich ein alkoholfreier Digitalisinfus, den wir nach der üblichen Methode der Pharmakopoe selbst aus Digitalispulver herstellten. Wir gingen dabei folgendermaßen vor: 1 g titrierte Digitalisblätter (1500—2500 F. D.) werden mit 100 ccm H_2O — siedend — übergossen, dann 10 Minuten im Wasserbad bei 80° gehalten, abgekühlt, filtriert und pro Ratte 5 ccm intraperitoneal gespritzt.

Schließlich wurde noch das Präparat Strophanthin Boehringer nach Angaben der Firma in wässeriger Lösung angewendet.

Die benutzten Präparate wurden alle intraperitoneal verabreicht.

Die Methode der Glykogenbestimmung geschah nach einer Modifikation der Pflügerschen Methode mit Titration des hydrolysierten Glykogens nach der Methode von Shaffer-Somogyi. Die Methode ist in allen Einzelheiten von Bomskov und von Kaulla beschrieben.

Versuchsprotokolle.

Die Versuchsprotokolle gehen in allen Einzelheiten aus folgenden Tabellen hervor. Es handelt sich um die Aufstellung einer Dosiswirkungskurve mit dem Präparat Digilanid, um die Aufstellung einer Zeitwirkungskurve mit demselben Präparat und um die Prüfung von Einzeldosen verschiedener, obengenannter Substanzen.

Bei der Beurteilung der gefundenen Glykogenwerte legen wir den größten Wert auf die Bestimmung des Herzmuskelglykogens. Bekanntlich ist das Leberglykogen als Depotstoff sehr vielen Einflüssen unterworfen, es kann bei unzweckmäßiger Ernährung, bei Hunger und Kälteeinwirkung, sowie bei Zufuhr einer ganzen Reihe unspezifischer Substanzen, wie Eiweißabbauprodukte, Alkohol in genügenden Konzentrationen usw., starke Schwankungen zeigen. Eine Senkung des Herzglykogens dagegen ist erheblich weniger unspezifischen Einwirkungen unterworfen. Es ist eine bekannte Tatsache, daß sogar bei Hungern der Tiere keine Senkung, sondern eine Vermehrung des Herzglykogens eintritt [Evans (27)].

Inwieweit eine Beeinflussung des Leberglykogens durch den Alkoholgehalt der injizierten Lösungen zustande gekommen ist, läßt sich in unseren Versuchen nicht sicher beurteilen*. Wir möchten immerhin darauf hinweisen, daß auch das alkoholfreie Digitalisinfus eine Wirkung auf das Leberglykogen gezeigt hat. Allerdings besteht hier die Möglichkeit, daß im Infus noch andere unspezifische Substanzen vorhanden sind, die an sich eine Senkung des Leberglykogens hervorrufen können. Eine Prüfung der reinen Digitalissubstanzen läßt sich ohne Anwendung von Alkohol nicht

* Vgl. A. Bickel: Biologische Wirkungen des Alkohlos auf den Stoffwechsel. Thieme 1936.

durchführen. Es ist deshalb bei der Beurteilung unserer Ergebnisse, soweit sie das Leberglykogen betreffen, der genannte Einwand nicht außer acht zu lassen.

Tabelle 1. Zeitwirkungskurve für Digilanid bei der Ratte.

(1 ccm intraperitoneal pro Tier.)

Gewicht g	Geschlecht	Getötet nach Stunden	Leberglykogen	Herzglykogen	Muskelglykogen
115	weiblich	4	0,88	0,47	0,57
115	„	4	1,30	0,47	0,52
150	männlich	4	1,30	0,52	0,62
190	„	4	0,73	0,31	0,42
160	„	4	1,20	0,47	0,62
190	männlich	12	1,99	0,15	0,31
160	„	12	1,24	0,07	0,26
160	„	12	1,82	0,05	0,31
135	weiblich	12	1,04	0,15	0,37
145	„	12	1,20	0,12	0,21
110	weiblich	24	3,75	0,05	0,26
170	männlich	24	4,15	0,0	0,37
150	„	24	3,60	0,0	0,62
155	„	24	4,80	0,0	0,36
140	weiblich	24	3,50	0,0	0,52
138	männlich	36	2,25	0,22	0,57
160	weiblich	36	1,30	0,12	0,42
140	„	36	1,10	0,15	0,37
185	männlich	36	1,62	0,26	0,42
170	„	36	1,00	0,26	0,37
125	weiblich	48	1,69	0,21	0,47
145	männlich	48	2,55	0,16	0,36
146	„	48	2,55	0,15	0,42
125	weiblich	48	4,90	0,31	0,42
140	männlich	48	1,86	0,26	0,47
162	männlich	60	5,20	0,47	0,47
142	„	60	5,00	0,26	0,42
148	„	60	4,80	0,37	0,47
160	weiblich	60	5,70	0,37	0,52
106	?	60	5,10	0,42	0,52
145	männlich	72	5,10	0,29	0,57
148	weiblich	72	4,10	0,47	0,63
120	„	72	5,40	0,32	0,52
188	männlich	72	5,60	0,42	0,78
115	weiblich	72	5,60	0,32	0,47
130	männlich	84	2,04	0,36	0,47
165	„	84	4,65	0,52	0,57
165	„	84	3,90	0,42	0,60
125	„	84	2,30	0,52	0,57
165	weiblich	84	1,80	0,47	0,42

Tabelle 2. Dosiswirkungskurve für verschiedene Digitalissubstanzen bei der Ratte nach 12 Stunden. (Intraperitoneale Injektion.)

Gewicht g	Geschlecht	Dosis	Nach Stunden	Leber-glykogen	Herz-glykogen	Muskel-glykogen
		Digilanid				
145	männlich	6,9 ccm/kg	12	1,72	0,0	0,39
230	„	6,9 „	12	2,30	0,0	0,52
155	„	6,9 „	12	1,56	0,15	0,31
190	weiblich	6,9 „	12	2,05	0,0	0,47
		Strophantin				
200	männlich	0,25 mg/Tier	12	3,10	0,47	0,52
170	„	0,25 „	12	3,27	0,42	0,62
245	„	0,25 „	12	4,40	0,44	0,73
175	„	0,25 „	12	4,70	0,37	0,62
		Infus				
105	männlich	5 ccm/Tier	12	1,70	0,0	0,46
185	„	5 „	12	1,30	0,0	0,44
220	„	5 „	12	2,70	0,15	0,46
175	„	5 „	12	1,50	0,0	0,44

Tabelle 3. Dosiswirkungskurve an Ratten für Digilanid nach 36 Stunden.

Gewicht g	Geschlecht	Dosis ccm/kg	Blutzucker mg/%	Leber-glykogen	Herz-glykogen	Muskel-glykogen	
85	weiblich	2,5	111	3,65	0,26	0,37	
210	„	2,5	116	4,30	0,32	0,52	
130	männlich	2,5		4,45	0,47	0,57	
98	weiblich	2,5		4,15	0,37	0,52	
120	männlich	2,5		4,95	0,32	0,37	
115	männlich	5,0	100	3,45	0,22	0,47	
105	weiblich	5,0	113	2,90	0,26	0,26	
105	„	5,0		2,70	0,26	0,42	
105	„	5,0		3,35	0,26	0,52	
80	männlich	5,0		3,10	0,32	0,52	
108	männlich	7,5	96	2,15	0,47	0,52	
115	„	7,5	92	1,92	0,32	0,37	
100	weiblich	7,5		1,34	0,32	0,37	
140	männlich	7,5		1,26	0,52	0,47	
95	„	7,5		1,51	0,42	0,37	
108	männlich	10,00	107	1,99	0,32	0,57	
95	„	10,00	111	1,94	0,47	0,52	
115	„	10,00		1,84	0,32	0,42	
103	„	10,00		1,04	0,47	0,47	
108	weiblich	10,00		2,80	0,42	0,32	trächtig!
120	männlich	12,5	99	0,68	0,37	0,47	
106	„	12,5	106	0,47	0,21	0,21	
130	„	12,5		0,57	0,26	0,32	
145	weiblich	12,5		0,68	0,26	0,26	

Tabelle 4.
Dosiswirkungskurve für Digitoxigenin bei der Ratte nach 36 Stunden.

Gewicht g	Geschlecht	Dosis mg/kg	Leberglykogen	Herzglykogen	Muskelglykogen
340	männlich	0,25	3,55	0,17	0,52
280	„	0,25	3,40	0,31	0,42
250	„	0,25	3,75	0,12	0,31
260	„	0,25	3,25	0,20	0,47
270	„	0,50	2,85	0,0	0,47
360	„	0,50	3,15	0,05	0,57
140	„	1,0	4,75	0,26	0,52

Tabelle 5. Dosiswirkungskurve für Digitoxin bei der weißen Ratte.
(Intraperitoneale Injektion.)

Gewicht g	Geschlecht	Dosis	Nach Stunden	Leber-glykogen	Herz-glykogen	Muskel-glykogen
120	weiblich	3,405 mg/kg	12	4,65	0,67	0,73
160	„	3,405 „	12	4,40	0,78	0,83
170	männlich	3,405 „	12	4,80	0,67	0,78
135	„	3,405 „	12	5,50	0,73	0,83
135	„	3,405 „	12	2,70	0,62	0,67
280	männlich	1 mg/Tier	36	2,35	0,09	0,52
230	„	1 „	36	2,10	0,0	0,21
199	weiblich	1 „	36	2,70	0,15	0,26
160	männlich	1 „	36	2,90	0,21	0,84

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus den obigen Tabellen haben wir im folgenden sowohl eine Dosiswirkungskurve wie eine Zeitwirkungskurve für das Präparat Digilanid aufgestellt. Es geht aus der Abbildung 1 sowohl die quantitative Wirkung

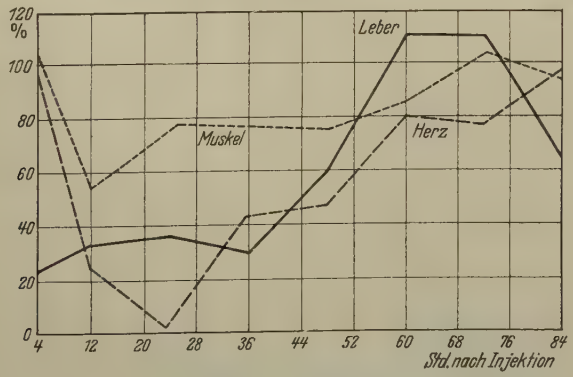


Abb. 1. Zeitwirkungskurve für Digilanid. Glykogenwerte in Prozent der Norm ausgedrückt.

wie die zeitliche Wirkung des Digilanid auf das Leber-, Herz- und Muskelglykogen von Ratten hervor. Was die Zeitwirkungskurve betrifft, so finden wir schon wenige Stunden nach der Injektion eine starke Senkung des Leberglykogens, die 24 Stunden und länger anhält und erst nach 60 Stunden zur Norm zurückgekehrt ist. Das Herzglykogen zeigt die größte Beeinflussung und eine maximale Senkung auf fast Null nach 24 Stunden. Von da ab findet eine langsame Erholung des Glykogens statt, so daß erst nach 80 Stunden wieder ein Normalwert im Herzglykogen gefunden wird. Am wenigsten beeinflußt ist das Skeletmuskelglykogen, das nach 12 Stunden eine Senkung auf 50% der Norm aufweist, um dann langsam zur Norm zurückzukehren.

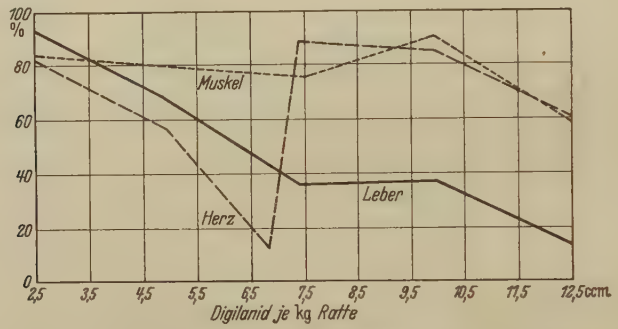


Abb. 2. Dosiswirkungskurve für Digilanid. Werte wie Abb. 1.

Die Dosiswirkungskurven sind in ihrer Deutung nicht ganz einfach. Wir finden mit steigenden Dosen für das Leberglykogen ebenfalls eine steigende Abnahme, für das Muskelglykogen ist ebenfalls mit steigender Dosis im allgemeinen eine verstärkte Reaktion festzustellen, für das Herzmuskelglykogen dagegen findet sich bei einer ganz bestimmten Dosis ein maximaler Wert, d. h. eine maximale Senkung des Glykogengehaltes. Werden über diese optimale Dosis hinaus noch stärkere Konzentrationen verabreicht, so ist die Reaktion des Herzmuskelglykogens trotz dieser größeren Dosierung geringer als vorher. Eine Erklärung für dieses Verhalten ist schwer zu finden.

In Abb. 3 zeigen wir eine Zusammenfassung der Ergebnisse über die Bestimmung von Leber-, Herz- und Muskelglykogen nach Injektion von Digilanid, Strophanthin, Digitalisinfus, Digitoxin und Digitoxigenin bei der Ratte. Die Abb. 3 stellt die von uns erhaltenen Mittelwerte noch einmal zusammen. Es geht daraus im allgemeinen hervor, daß die stärkste Wirkung in allen Fällen das Herzmuskelglykogen betrifft. Sowohl mit Digilanid wie mit Digitalisinfus wie mit Digitoxigenin beträgt die Senkung des Herzmuskelglykogens über 90% der Norm. Digitoxin und kleinere Dosen Digitoxigenin verursachen eine bereits über 50%

hinausgehende Senkung des Herzglykogens. Bei Betrachtung der Tabellen läßt sich ersehen, daß im allgemeinen die Wirkungsart der einzelnen Digitalissubstanzen sehr unterschiedlich ist. Die stärkste Wirkung sowohl auf das Leber- wie auf das Herzglykogen entfalten Digilanid, Digitalisinfus und Digitoxigenin. Strophanthin und Digitoxin wurden, wie aus der Abb. 3 ersichtlich ist, ebenfalls nach 12stündiger Wirkung geprüft. Die Wirkung ist in diesen Fällen erheblich kleiner als diejenige nach 36 Stunden, obgleich in diesen Fällen kleinere Dosen gegeben wurden.

Es geht aus den vorstehenden Ausführungen hervor, daß die Verabreichung von Digitalissubstanzen bei der Ratte imstande ist, einen starken Einfluß insbesondere auf Herz- und Leberglykogen auszuüben.

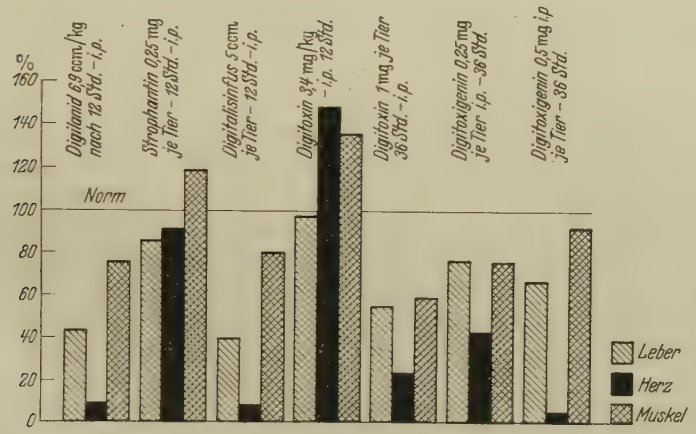


Abb. 3. Wirkung von Digitalissubstanzen auf Glykogen (Werte in Prozent der Norm).

Wir dürfen wahrscheinlich vermuten, daß die einleitend beschriebenen, sehr unterschiedlichen Versuchsergebnisse hinsichtlich der Beeinflussung der Glykogenreserven auf den oben genannten Umstand zurückzuführen sind, daß im Verlaufe der Wirkung der Substanzen zeitliche Schwankungen im Glykogen auftreten. Außer diesen zeitlichen Schwankungen gibt es aber auch, wie aus der Dosiswirkungskurve hervorgeht, Änderungen der Reaktion der Digitalissubstanzen, die von der Dosis abhängen. So haben wir die Beobachtung gemacht, daß nach kleineren Dosen eine stärkere Senkung des Glykogengehaltes auftreten kann als nach größeren. Wir haben also auch hier vielleicht eine ähnliche Umkehr der Wirkung der Digitalissubstanzen, wie sie bei der Beeinflussung der Oxydationslage allgemein bekannt ist und wie wir sie hinsichtlich der Beeinflussung des Grundumsatzes kürzlich beschrieben haben.

Aus den obigen Zusammenstellungen ist ersichtlich, daß auch das Genin des Digitoxins eine Wirkung auf den Glykogenhaushalt hat. Das ist ein Zeichen dafür, daß die Wirkung an das Sterinskelet gebunden ist und daß, wie aus der Digitalisforschung bereits allgemein bekannt ist, die Zuckerkomponente nicht mit der Wirkung an sich verknüpft ist, sondern lediglich die Wirkungsintensität und Dauer ändert. Auch die Genine als solche sind als eigentliche Träger der Herzwirkung anzusehen.

Die Erscheinung, daß in allen Fällen die stärkste Wirkung der Digitalissubstanzen gerade beim Herzglykogen vorhanden ist, läßt die Frage auftauchen, ob diese Wirkung irgend etwas mit der bekannten Herzwirkung der Digitalissubstanzen zu tun hat. Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, daß bereits früher festgestellt ist, daß unter der Wirkung des Digitalis am Herzen als erste Phase eine bessere Ausnutzung der Kohlehydrate erfolgt und als zweite Phase eine bessere Verwertung des Glykogens auftritt.

Über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens ist bekannt, daß das Herz aus dem Blute nur sehr wenig Kohlehydrate aufnimmt und hauptsächlich auf Kosten der Milchsäure des Blutes lebt [Himwich (28), Mc Ginty (29) und Rolshoven (30)]. Eigenes Herzglykogen wird unter normalen Umständen nur sehr wenig verbraucht [Evans (31), Rühl (32), Vischer (33) und Cruickshank (34)]. Es ist bei der Wirkung der Digitalisglykoside auf das Glykogen namentlich der Leber an eine bessere Zufuhr von Milchsäure für die Herztätigkeit zu denken. Hier liegen nun einige Literaturergebnisse vor, die an dieser Stelle berücksichtigt werden müssen. So stellt Schlesinger (35) fest, daß Digitalisstoffe den Glykogenabbau bis zur Milchsäure fördern, während der oxydative Abbau und die Dehydrierung der Milchsäure gehemmt werden. Freund (36) gibt an, daß in Gewebsbreiversuchen niedrige Digitaliskonzentrationen die anaerobe Milchsäurebildung aus zugesetzter Glucose steigern, während hohe Digitaliskonzentrationen hemmend wirken. Leppelmann (37) findet ebenfalls am zerkleinerten Gewebe, daß Strophanthin in kleinen Dosen die Milchsäurebildung aus Glucose steigert. Toxische Dosen hemmen sie. Nach Freund (38) liegt dem Digitaliseffekt eine verbesserte Glucose- und Glykogenverwertung zugrunde. Vom letzten wird ein größerer Teil als Milchsäure und Glucose wiedergefunden als in der Norm. Die Milchsäurebildung, insbesondere die anaerobe, ist gegen die Norm gesteigert. Thyroxin verschlechtert die Kohlehydratausnutzung, wirkt also genau den kleinen Digitaliskonzentrationen entgegen. Auch Gross-Sehlbeck (39) findet, daß Lanataglykoside die Glucoseverarbeitung des Herzmuskels steigern und die Milchsäurebildung fördern. Bei Lebergewebe ist kein sicherer Einfluß festzustellen.

Überblicken wir diese Befunde, so läßt sich feststellen, daß hinsichtlich der Beeinflussung des Glykogenhaushaltes eine deutliche Parallele zwischen

der Wirkung der Digitalissubstanzen und dem Thymushormon besteht. Auch hinsichtlich des Glykogengehaltes von Leber und Herzmuskel ist also die Wirkung des Thymushormons in Beziehung zu setzen zur Wirkung der Digitalisglykoside. Daß diese Wirkung nicht nur auf äußerer Ähnlichkeit beruht, geht daraus hervor, daß auch wir für das Thymushormon eine Förderung der anaeroben Vorgänge und eine Hemmung der Oxydationen nachgewiesen haben. Es ist zu vermuten, daß die Wirkung beider Substanzen auch im Intermediärstoffwechsel eine ähnliche ist. Damit haben wir nachgewiesen, daß sowohl hinsichtlich der Oxydationslage wie hinsichtlich der Beeinflussung des Glykogenstoffwechsels zwischen kleinen Dosen der Digitalissubstanzen und dem Thymushormon eine auffallende Parallelität besteht. Inwieweit diese Parallelität der Wirkung uns jedoch berechtigt, auf die Konstitution des Thymushormons Schlüsse zu ziehen, ist eine Frage, die wir auf Grund des heutigen Standes der Versuche nicht beantworten dürfen.

Zusammenfassung.

Nach einer Übersicht über die Wirkung von Sterinderivaten auf den Glykogenstoffwechsel wird gezeigt, daß in Übereinstimmung mit einigen Literaturangaben Digitalispräparate imstande sind, eine starke Senkung von Leber-, Herz- und Muskelglykogen herbeizuführen. Die Wirkung der Digitalissubstanzen ist am Herzglykogen am ausgesprochensten. Die sich aus diesen Befunden ergebenden Beziehungen zur Wirkung des Thymushormons werden diskutiert.

Literatur.

1) Bickel: Schulte: Erscheint Biochem. Z. 1941. — 2) Bomskov u. Hölscher: Die Thymektomie. — 3) Bomskov, Hölscher u. Hartmann: Der Thymustod. — 4) Maeda: J. Biochem. (e.; Jap.) **28**, 85 (1938). — 5) Fuzita: Rona-Ber. **60**, 749. — 6) Ishihara: Arch. d. med. Fakultät Okayama **5**, 545 (1938). — 7) Tsuji, K.: J. Biochem. (e.; Jap.) **12**, 139 (1930). — 8) Molfino, Fr., u. V. Patrano: Clin. med. ital. **67**, 493 (1936). — 9) Teraoka, M.: Biochem. Z. **249**, 95 (1932). — 10) Dworacek, E.: Klin. Wschr. **1939**, S. 814. — 11) Zunz u. La Barre: Ann. Physiol. **14**, 634 (1938). — 12) Schumann, Heinr.: Klin. Wschr. **1940**, Nr. 16, S. 346. — 13) De Gennaro, Alf., u. S. Basta: Ormoni **1**, 25 (1939). — 14) Isakon, B. O.: Rona-Ber. **112**, 136 (1939). — 15) Weese: Digitalis. Leipzig, Verlag Thieme, 1936. — 16) Gremels: Arch. f. exp. Path. **169**, 689—723 (1933). — 17) Bomskov, v. Kaulla u. Maurath: Wirkung von Sterinderivaten auf den Stoffwechsel. — 18) D'Alessandria: Fol. med. (It.) **18**, 1399 (1932). — 19) Lasch u. Triger: Z. exper. Med. **88**, 588 (1933). — 20) Hahn, Fritz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 62 (1939). — 21) Liebig, H.: Ebenda **196**, 137 (1940); Habil. Breslau 1933. — 22) Haendel u. Munilla: Biochem. Z. **212**, 35 (1929). — 23) Veil, W. H., u. L. Heilmeyer: Dtsch. Arch. klin. Med. **147**, 22 (1925). — 24) Ginsburg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **128**, 126 (1928). — 25) Beco u. Plumier: J. Physiol. et Path. gén. **20**, Nr. 2 (1922). — 26) Beco: Arch. internat. Med. exper. (Belg.) **2**, 223 (1926). — 27) Evans: Brit. J. physiol. Opt. **82**, 468 (1934). — 28) Himwich:

Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **25**, 347 (1928). — 29) Mc Ginty: Amer. J. Physiol. **98**, 244 (1931). — 30) Rolshoven: Z. exper. Med. **90**, 225 (1933). — 31) Evans: J. Physiol. (Brit.) **82**, 468 (1934). — 32) Rühl: Klin. Wschr. **1934**, S. 1529. — 33) Vischer, Amer. J. Physiol. **94**, 630 (1930). — 34) Cruickshank: J. Physiol. (Brit.) **47**, 1 (1913). — 35) Schlesinger, Ilona: Diss. Münster 1935. — 36) Freund, Hermann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 224 (1936). — 37) Leppelmann, Bruno: Diss. Münster 1934. — 38) Freund: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 73 (1932). — 39) Gross-Sehlbeck, Wilhelm: Diss. Münster 1933. — 40) Gennaro, A. de, u. S. Vasta: Ormoni **1**, 25 (1939). — 41) Tortora: Arch. ostetr. **2**, 313 (1938). — 42) Zunz, Edg., u. J. La Barre: Arch. internat. Physiol. **48**, 405 (1939). — 43) Fichera: Arch. ital. Med. sper. **4**, 133 (1939). — 44) Ventura: Gi. clin. med. **20**, 842 (1939). — 45) Rathery u. Turjaff: C. r. Soc. Biol. Paris **128**, 155 (1938); **128**, 157 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt)
und der Medizinischen- und Nervenklinik der Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. H. Reinwein).

Das Verhalten der Hirndurchblutung im Cardiazolkrampf.

Von
K. H. Osterwald.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Mai 1941.)

Die Provokation „epileptischer Anfälle" durch intravenöse Stoßinjektion von Cardiazol ist ein Problem, das Klinik und Wissenschaft in gleicher Weise interessiert und gerade in neuerer Zeit in zunehmendem Maße Beachtung findet. Seit v. Meduna (1) 1934 analeptisch wirkende Pharmaka in die Therapie bestimmter Geisteskrankheiten einführte, wurde dieses Verfahren immer weiter ausgebaut. Dabei hat sich das Cardiazol als besonders wirksam und bezüglich seiner chemisch-pharmakologischen Eigenschaften am geeignetsten erwiesen, so daß ihm heute aus der Gruppe der Wiederbelebungsmittel die größte Bedeutung zukommt.

Entsprechend der allgemein verbreiteten Anwendung des Cardiazols in der Schockbehandlung der Schizophrenie sollte man annehmen, daß über den Entstehungsvorgang dieser Zustände Klarheit herrschen würde. Wie eine Durchsicht des Schrifttums ergibt, ist dies aber keineswegs der Fall. Trotz zahlreicher experimenteller Untersuchungen von anatomischer, physiologischer und pharmakologischer Seite konnte eine Entscheidung über die Streitfrage, ob cerebrale Gefäßspasmen beim Cardiazolkrampfanfall grundsätzlich die auslösende Ursache sind — wie das für die genuine Epilepsie angenommen wird — noch nicht herbeigeführt werden. Es liegt dies wohl zum großen Teil in der Einseitigkeit der Methodik, mit der die komplizierten Vorgänge des Cardiazolkrampfes erforscht werden sollten.

Die am häufigsten herangezogenen histologischen Gehirnuntersuchungen von Tieren, die mit krampferregenden Cardiazoldosen vorbehandelt waren, hatten zum Ziel, sich aus Ganglienzellen und Gefäßveränderungen ein Bild von dem Ablauf des biologischen Geschehens während des Krampfanfalles zu machen.

Die Ergebnisse solcher Versuche an Tieren nach wiederholten Cardiazolkrämpfen sind für unsere Fragestellung weniger von Interesse, da wir vor allen Dingen das Verhalten der Hirndurchblutung im akuten Versuch einer Betrachtung unterziehen wollten. Deshalb soll von einer Aufzählung der vielen, zum Teil widersprechenden Befunde abgesehen werden. Eine klare Abhängigkeit häufig beobachteter Ganglienzellschädigungen von den versorgenden Gefäßen wurde unseres Wissens nie festgelegt. So konnten Dreszer und Scholz (2), die nach Tötung der

Versuchstiere im Cardiazolkrampf ihr Augenmerk auf den Füllungszustand der Hirnkapillaren richteten, keine bindenden Schlüsse aus der beobachteten Hirnanämie im präparoxysmalen Stadium hinsichtlich des Krampfbeginnes ziehen. „Der Zeitpunkt des Auftretens dieser Durchblutungsstörungen war nicht genau festzulegen." Rotter und Krug (3) u. a. beschrieben zwar Ganglienzellenveränderungen im Sinne hypoxämischer Schädigung, erwähnten aber gar nicht das Verhalten des zugehörigen Gefäßsystems. Das Nacheinander akuter Veränderungen und deren zeitliche Abläufe lassen sich sehr schwer aus Augenblicksbildern herauslesen; deshalb muß es große Schwierigkeiten machen, auf histologischem Wege den Beginn und Zusammenhang der nachweislichen Erscheinungen einer „Cardiazolepilepsie" mit dem Verhalten der Hirndurchblutung genau festzulegen.

Durch direkte Betrachtung der pialen Gefäße mittels Schädelfenster während eines durch elektrische Hirnrindenreizung erzeugten epileptischen Anfalls war es möglich, den Füllungszustand der oberflächlichen Hirnkapillaren zu beobachten. Dabei konnten u. a. von Bruch (4), Sántha (5) niemals Angiospasmen nachgewiesen werden. Mitteilungen über ähnliche Untersuchungen im Cardiazolkrampfanfall scheinen nicht vorzuliegen; nach Anwendung nicht krampferzeugender Cardiazolgaben wurde eine Erweiterung der Piagefäße und Eröffnung neuer kapillärer Strombahnen von Fischer (6) beschrieben.

Die Diskrepanz zwischen den Ansichten, die zum Teil auf Grund der oben erwähnten histologischen Veränderungen an der Spielmeyerschen Lehre vasomotorischer Störungen unter den Krampfursachen festhalten, und den biologischen Experimenten von Bruch, Sántha und Fischer ist besonders bemerkenswert und beleuchtet die Schwierigkeiten, die sich der Untersuchung schnell ablaufender Vorgänge entgegenstellen.

Amerikanische Autoren gingen wahrscheinlich deshalb auf anderem Wege vor und registrierten die Durchblutung der Hirngefäße am unnarkotisierten Kaninchen im „Cardiazolschock" mittels einer modifizierten Thermostromuhr [Leibel und Hall (7)]. Auf ihre Ergebnisse werden wir später zurückkommen müssen. Schon früher haben M. und D. Schneider (8) mit der Thermostromuhr von Rein das Verhalten der Hirngefäßweite bei Hunden nach Darreichung verschiedener Pharmaka, so auch eines Analeptikums (Coramin), zu klären versucht. Infolge Erwachens der Versuchstiere wurden die eigentlichen Gefäßreaktionen überdeckt; ihre Beurteilung wurde dadurch unmöglich.

Nach den bisherigen widersprechenden Ergebnissen schien es erforderlich, erneut die Frage Cardiazolkrampf und Hirndurchblutung einer Prüfung zu unterziehen.

Methodik.

Als Versuchstier mußten wir den Hund wählen, um eine einwandfreie Registrierung der größeren Hirngefäße zu gewährleisten; außerdem dürfte es gerade für diese Versuche von besonderer Wichtigkeit sein, eine möglichst gleichmäßige und dem Menschen nicht zu entgegengesetzte Tonuslage des vegetativen Nervensystems voraussetzen zu können. In dieser Beziehung wäre das Kaninchen ein sehr wenig geeignetes Objekt.

Wir bedienten uns als Narkoticum des Pernoctons (50 mg/kg i. m.) und einige Male auch des Urethans (1 g/kg sbc.). Bei letzterem war jedoch zur Erzielung einer ausreichenden Operationsschlaftiefe der Zusatz von Morphin (1 mg/kg) oder einer kleineren Menge von Pernocton notwendig.

An 10 Hunden wurde die Durchblutung der Arteria carotis interna nach schonlicher Präparation mit Hilfe der Thermostromuhr von Rein gemessen. Der Blutdruck und in einigen Versuchen auch der rechte Vorhofdruck wurden unter Anwendung des Gegenstromprinzips optisch registriert. Die Tiere atmeten spontan. Das Cardiazol wurde sehr rasch i. v. injiziert. Zur Auslösung eines Krampfes waren bei den Tiergewichten von 15 bis 25 kg Dosen von 0,5 bis 2,0 g erforderlich, was ungefähr dem 10—11fachen der am Menschen üblichen Größe zur Auslösung des Cardiazolschocks entsprechen würde. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß die in unseren Versuchen angewandte ziemlich tiefe Narkose die Cardiazol-Krampfschwelle um ein Mehrfaches heraufsetzt. Oft war eine Abschwächung des zu heftigen Krampfanfalles durch Ätherinhalation oder Beendigung durch eine kleine i. v. Pernoctongabe erforderlich. Wir haben nach Möglichkeit die Dauer eines ganzen Krampfablaufes und der postparoxysmischen Phase registriert. In den meisten Fällen war dies bei guter Lage des Elementes und entsprechender Fixierung des Hundekopfes durchzuführen.

Ergebnisse.

Während im allgemeinen Dosis und Wirkung in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen, sind bei unseren Untersuchungen die Ansprechbarkeit auf das Cardiazol und die Narkosetiefe des Versuchstieres von weittragender Bedeutung. Unterschwellige Cardiazolgaben, die keinen Krampfanfall hervorrufen, beeinflussen die Hirnzirkulation fast gar nicht, wie wir in einigen Versuchen feststellen konnten. Es war nicht vorauszusehen, welche Cardiazoldosis genügen würde, um einen typischen Krampfanfall auszulösen. Wenn ungefähr das 10fache der in der Klinik üblichen „Schockdosis" injiziert wurde, dann konnte zwar mit einer Durchbrechung der Narkosetiefe gerechnet werden, ein Krampfanfall trat aber nicht immer ein. Die Reaktionsweise auf das „Krampfgift" war unter den einzelnen Versuchstieren verschieden. Neben diesem ganz unterschiedlichen Faktor wurde die Beeinflussung des Krampfeintritts durch das angewandte Narkoticum in besonderem Maße beobachtet. Wir gewannen im Verlaufe der Versuche den Eindruck einer gewissen Abhängigkeit der Reaktionen am Blutdruck und auch der Hirndurchblutung vom angewandten Narkoticum. Um später alle Ergebnisse unter einem einheitlichen Gesichtspunkt betrachten zu können, ist eine weitgehende Klarlegung der Narkosefrage durch Gegenüberstellung von Experimenten in Pernocton- und solchen in Urethannarkose erforderlich.

Zwei Originalkurven, die einem Versuch in Pernoctonnarkose entnommen sind, mögen das Folgende anschaulich zur Darstellung bringen.

Ein Hund von 15 kg erhält 0,6 g Cardiazol in 8 Sekunden i. v. (Abb. 1). Etwa nach 18 Sekunden tritt ein Blutdruckabfall um 13 % und eine Minderdurchblutung der A. carotis interna um 3,2 % ein. Zu diesem Zeitpunkt

beginnen sehr heftige Krämpfe, wie durch Signal kenntlich gemacht ist. Einem weiteren Blutdrucksturz auf 50 % des Ausgangswertes folgt eine Minderung der Hirnzirkulation um 17 %; sie wird bei wieder ansteigendem

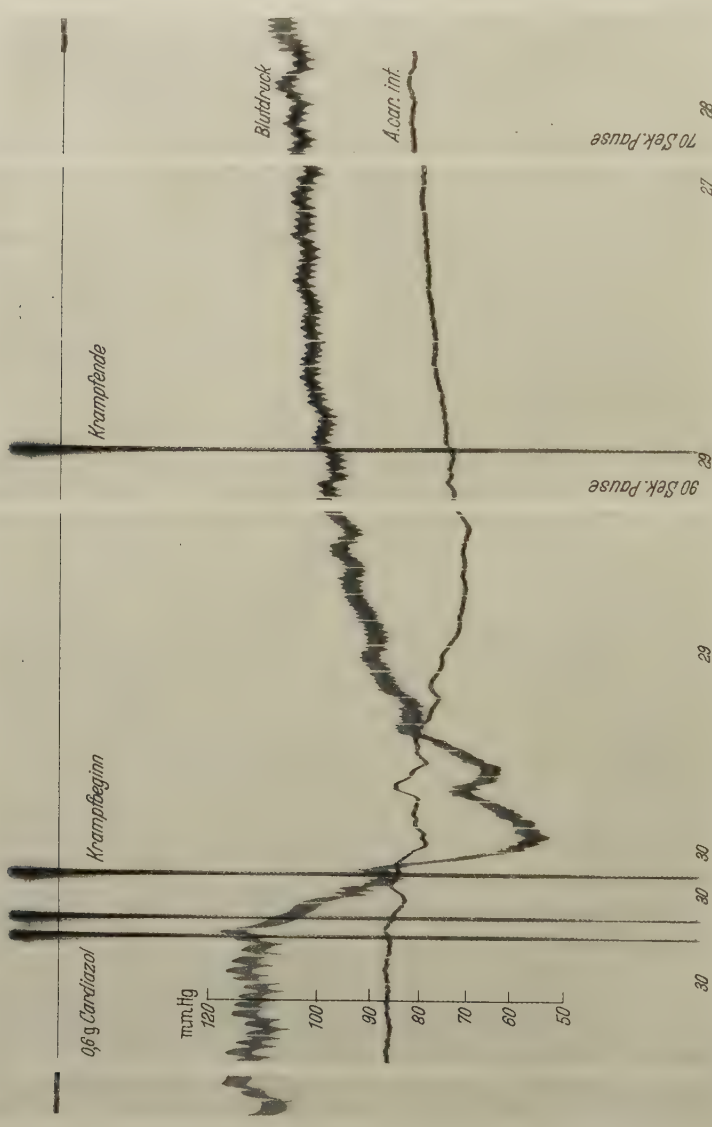


Abb. 1. Hund, 15 kg. Pernoctonnarkose. Zwischen den ersten beiden Signalzeichen Injektion von 0,6 g Cardiazol i. v. Das dritte Signal bedeutet Krampfbeginn, das letzte Signal Krampfende. Die Kurven bedeuten von oben nach unten: Blutdruck mit Eichskala in mm Hg, Durchblutung der A. carotis interna. Untere Zahlenreihe gibt die Pulsfrequenzen in 10 Sekunden wieder. Zeitschreibung: 10 Sekunden, markiert durch Unterbrechung des Lichtes der Galvanometerlampen.

Blutdruck noch ausgeprägter und geht anscheinend in eine aktive Konstriktion der Hirngefäße über. Auch nach Beendigung des 3 Min. 40 Sek. dauernden Krampfstadiums (letztes Signal) bleiben Blutdruck und vor allem die Hirndurchblutung noch weit unter dem Ausgangsniveau. Es

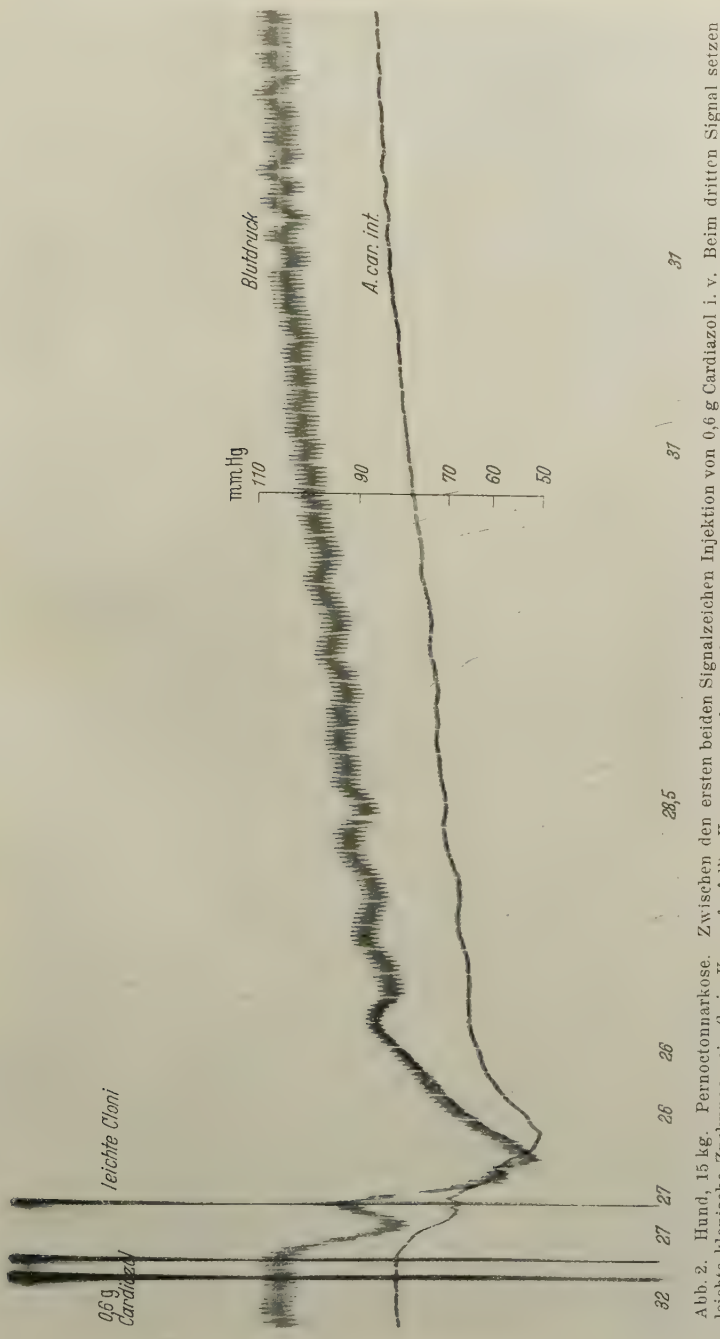


Abb. 2. Hund, 15 kg. Pernoctonnarkose. Zwischen den ersten beiden Signalzeichen Injektion von 0,6 g Cardiazol i. v. Beim dritten Signal setzen leichte klonische Zuckungen ein (kein Krampfanfall). Kurven von oben nach unten: Blutdruck mit Eichung in mm Hg. Durchblutung der A. carotis interna. Untere Zahlenreihe gibt die Pulsfrequenzen in 10 Sekunden wieder.

ist wichtig hervorzuheben, daß der Krampfanfall nicht mit einer nennenswerten Durchströmungsänderung eingeleitet wird, erst gegen Ende des typischen Zustandes setzt sich eine länger anhaltende Drosselung der Hirngefäßweite durch. Unter Berücksichtigung des Verhaltens der Durchblutungsänderung zum Blutdruckfall im Beginn des Krampfes wäre eher eine Gefäßerweiterung anzunehmen; denn nur durch diesen Ausgleich kann das Stromvolumen der A. carotis interna annähernd auf der Ausgangsgröße gehalten werden. An den Pulsfrequenzen treten keine Besonderheiten ein, die für den Reaktionsablauf eine Erklärung geben könnten.

Einen ausgesprochen blutdruckabhängigen Verlauf nimmt die Stromkurve der A. carotis interna auf Abb. 2. Bei gleicher Cardiazoldosis wie vorher kommt es nach vorausgehender Blutdrucksenkung zu einer nicht unerheblichen Abnahme der Hirndurchströmung. Erstaunlicherweise tritt etwa 23 Sekunden nach der Cardiazolinjektion nur ein leichtes Zittern ein, der eigentliche Anfall bleibt aus. Auch ein weiterer Blutdruck- und Durchblutungsabfall ändert hieran nichts. Die während dieser eindrucksvollen Kreislaufumstellung zu erwartende Pulsreaktion tritt ebenfalls kaum in Erscheinung. Wenn man aus diesen Tatsachen ein geringes Ansprechen des Zentralnervensystems auf das Cardiazol ableiten will, so erhebt sich die Frage, inwieweit hier die Pernoctonnarkose einen hemmenden Einfluß ausübt. Eine eingehende Erörterung soll erst nach Darlegung weiterer Befunde stattfinden.

Diese beiden Originalabbildungen aus ein und demselben Versuch zeigen die Schwierigkeiten, die sich bei der Deutung der Kurven ergeben, sie ermöglichen aber auch einen Einblick in die Geschehnisse und weisen auf das Bestehen anderer für die Krampfentstehung noch unbekannter Momente hin, die mit der Größe der Hirnzirkulation sicher nichts zu tun haben.

Unsere Bemühungen, in reiner Urethannarkose die Cardiazolreaktion auf die Hirndurchblutung zu untersuchen, scheiterten meist an der unzulänglichen Narkosetiefe. Fast immer war ein Zusatz von Morphin oder sogar von Pernocton notwendig. So kamen wir bei einem 22 kg schweren Hund zu einer Mischnarkose von 1,0 g/kg Urethan und insgesamt 600 mg Pernocton (Abb. 3). Wohl als Folge dieser Kombination konnte erst eine Cardiazolinjektion von 2,0 g i. v. einen Krampfanfall auslösen. Auffallend spät (nach 30—35 Sekunden) setzen heftige Krämpfe ein. Der Blutdruck ist vorher im Latenzstadium etwas abgefallen, die Stromweite der A. carotis interna hat sogar vorübergehend eine deutliche Zunahme erfahren; während des Krampfbeginns zeigt sie ungefähr die Ausgangshöhe, um in der eigentlichen klonischen Phase in eine 2 Minuten anhaltende mäßige Dilatation überzugehen. Die Pulsfrequenzen sind vom Beginn des Krampfanfalles an deutlich beschleunigt und bleiben bei frequenter Atmung über längere Zeit erhöht. Man erkennt hieran den starken Einfluß der Cardiazoldosis auf das vegetative Nervensystem des vorwiegend mit Urethan narkotisierten

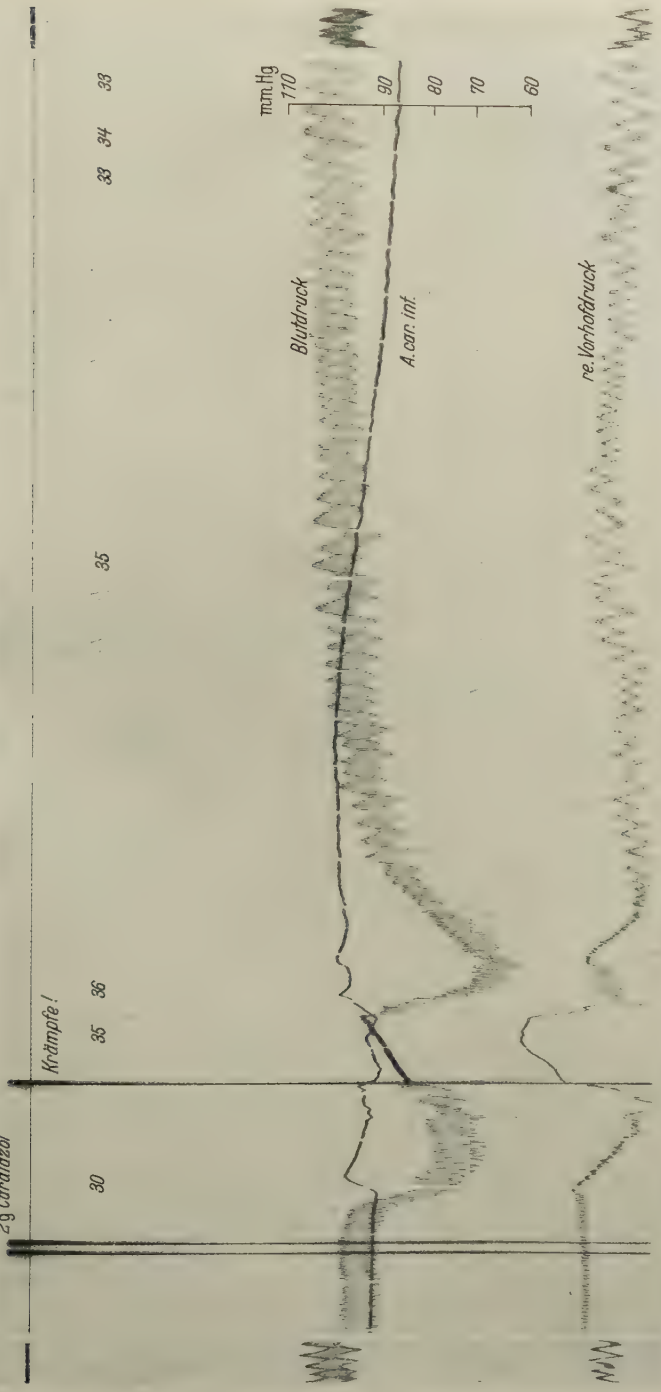


Abb. 3. Hund, 22 kg. Urethan-Pernoctonnarkose. Zwischen den ersten beiden Signalen Injektion von 2,0 g Cardiazol i. v. Beim dritten Signal Einsetzen heftiger Krämpfe. Kurven bedeuten von oben nach unten: Blutdruck mit Eichung in mm Hg am rechten Kurvenabschnitt, Durchblutung der A. carotis interna, rechter Vorhofdruck. Obere Zahlenreihe gibt die Pulsfrequenzen in 10 Sekunden wieder.

Hundes. Besonders möchten wir aber auf den Umstand hinweisen, daß die Hirndurchblutung hier ganz unabhängig vom Blutdruck verläuft; es tritt in der eigentlichen Krampfphase eine einwandfreie Mehrdurchblutung ein, obwohl der Blutdruck noch sehr tief liegt. Den Übergang in eine postparoxysmische Hirndurchblutungsabnahme möchten wir mit der „hyperpnoischen Acapnie" erklären, die Lougheed und Hall (9) während dieses Stadiums im arteriellen Kaninchenblute feststellen konnten. Durch die

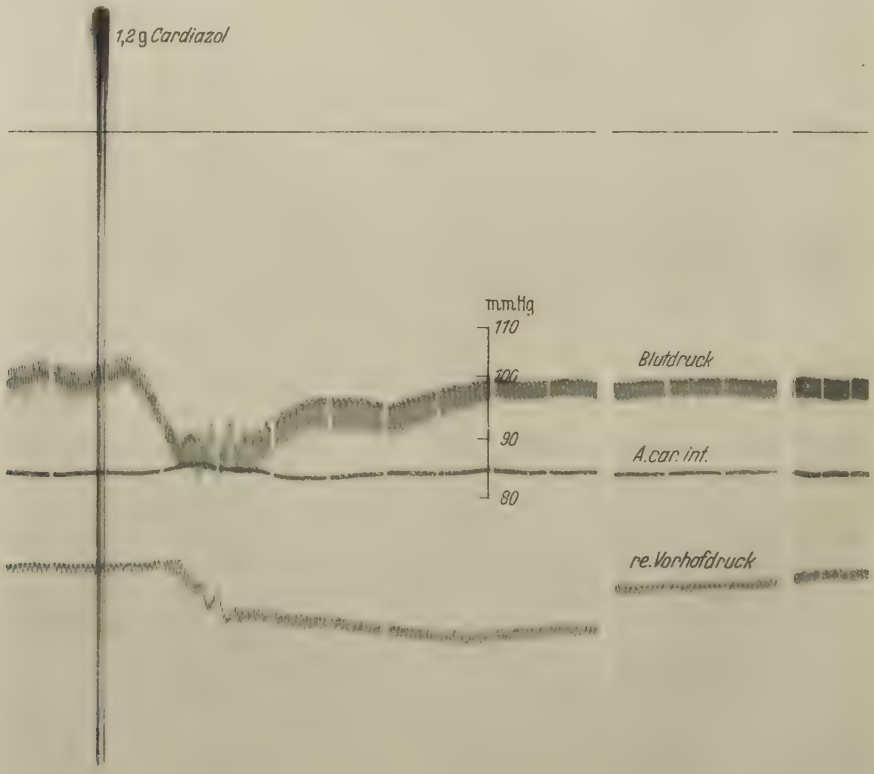


Abb. 4. Hund, 22 kg. Urethan-Pernoctonnarkose. Beim Doppelsignal Stoßinjektion von 1,2 g Cardiazol i. v. Kurven von oben nach unten: Blutdruck, Durchblutung der A. carotis interna, rechter Vorhofdruck. Vor dem zweiten und dritten Kurvenstück je 70 Sekunden Pause.

Hyperventilation wird Kohlensäure beschleunigt abgeatmet, es sinkt der Kohlensäurespiegel im Blute, dessen Höhe nach den Untersuchungen von M. u. D. Schneider (8) einen erweiternden Einfluß auf die Hirngefäße ausübt.

Ein besonderes Interesse beansprucht der Verlauf von Blutdruck und rechtem Vorhofdruck. Es mußte klargestellt werden, inwieweit die mehrfach beobachtete, zum Teil erhebliche Blutdruckabnahme nach krampferregenden Cardiazolgaben

eine Schädigung des Kreislaufs bedeutet. Auf der Originalabbildung 3 ist eindeutig zu erkennen, wie Blutdruckabfall und Absinken des rechten Vorhofdruckes Hand in Hand gehen. Den krassen Anstieg des rechten Vorhofdruckes zum Zeitpunkt des Krampfbeginns könnte man in Anbetracht der minimalen Amplituden des wieder ansteigenden Blutdruckes als Ausdruck einer Herzschädigung auffassen. Wir müssen aber berücksichtigen, daß der rechte Vorhofdruck zugleich auch durch intrathorakale Spannungsänderungen mit beeinflußt wird, die in der ersten Phase vor Ausbrechen der klonischen Krämpfe nach Cardiazolschockdosen eine große Rolle spielen. Es kommt während der Apnoe und der folgenden Preßatmung im tonischen Stadium fast immer zum Anstieg des rechten Vorhofdruckes, der mit Einsetzen tiefer Atemzüge bei gleichzeitigem Blutdruckabfall unter seinen ursprünglichen Wert absinkt und dort bei ansteigendem Blutdruck eine Zeitlang bleibt. Das Bild einer Herzschädigung müßte durch die Vorhofdruckkurve ganz anders dargestellt werden.

Krampfunterschwellige Cardiazoldosen, die eine mäßige Blutdrucksenkung hervorrufen, werden von einer gleichmäßigen Abnahme des rechten Vorhofdruckes begleitet (Abb. 4). In diesem Falle bleiben die eben erwähnten Atemstörungen aus, und auch die Hirndurchblutung zeigt keine wesentlichen Änderungen.

Da sich bei Anwendung reiner Pernoctonnarkose und der gemischten Urethan-Pernoctonnarkose im Verhalten der Hirndurchblutung nach krampferregenden Cardiazoldosen einige Besonderheiten herausgestellt hatten, war es wünschenswert, den Einfluß des Pernoctons in der Narkose möglichst auszuschalten. Im folgenden Versuch (Abb. 5) wurde dem 25 kg schweren Hund 1,0 g/kg Urethan sbc. und als Zusatz 1 mg/kg Morphin i. m. gegeben. Die oberflächliche Narkose zwang uns zur Äthergabe während der Operation. Wie im Versuch der Abb. 3 mußte ziemlich viel Cardiazol injiziert werden, um einen typischen Krampfanfall hervorzurufen. Nach einer i. v. Stoßinjektion von 1,5 g Cardiazol beginnen in der 17. Sekunde unter minimaler Blutdrucksenkung und erheblicher Zunahme der cerebralen Gefäßweite heftige Krämpfe. In der tonischen Phase kommt es wieder zu vorübergehender Apnoe mit Anstieg des rechten Vorhofdruckes; dieser sinkt mit Einsetzen forcierter Atmung im klonischen Stadium wieder ab. Im Gegensatz zu allen bisherigen Versuchen steigt der Blutdruck um 61 % an; die Durchströmung der A. carotis interna erfährt eine Zunahme um das $3^1/_2$fache, sie geht also weit über das Maß der Blutdruckerhöhung hinaus. Im weiteren Verlauf folgt die Hirndurchblutung annähernd der Blutdruckkurve. Infolge unverminderter Heftigkeit der klonischen Zuckungen sahen wir uns veranlaßt, durch Äthergabe dieses Stadium abzukürzen. Die Wirkung ist kenntlich an dem gleichmäßigen Zurückgehen der Durchströmungskurve bis auf den Normalwert. Die weiterhin anhaltende Erhöhung der Pulsfrequenzen ist ein Ausdruck der starken Beeinflussung des vegetativen Nervensystems, bedeutet daneben auch eine nicht unerhebliche Kreislaufbelastung.

Die Abb. 3 und 5 am urethannarkotisierten Tier zeigen als wichtige Merkmale gegenüber den Pernoctonversuchen (Abb. 1 und 2) eine primäre Steigerung der Hirnzirkulation nach krampferregenden Cardiazolgaben. Besonders Kurve 5, die einem Versuch in Urethan-Morphinnarkose ohne

Pernoctonzusatz entnommen wurde, läßt diesen Unterschied ohne weiteres erkennen. Die Zahl derartiger Beobachtungen ist jedoch zu klein, um Zufälligkeiten ausschließen zu können.

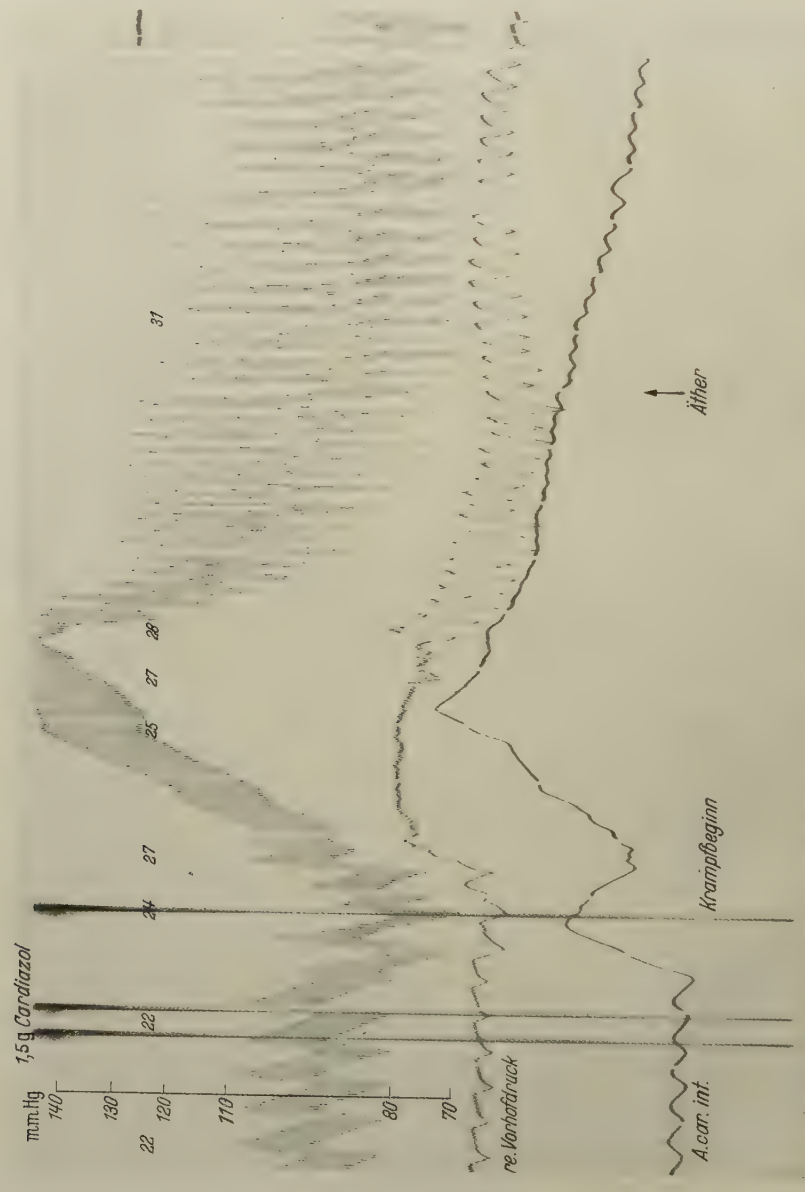


Abb. 5. Hund, 25 kg. Urethan-Morphinnarkose. Zwischen den ersten beiden Signalzeichen Injektion von 1,5 g Cardiazol i. v. Beim dritten Signal Beginn heftiger Krämpfe, die durch Ätherinhalation ▲ gemildert werden. Kurven bedeuten von oben nach unten: Blutdruck mit Eichung am linken Kurvenrand, rechter Vorhofdruck, Durchblutung der A. carotis interna. Obere Zahlenreihe gibt die Pulsfrequenzen in 10 Sekunden wieder.

Besprechung.

Einen nicht zu übersehenden Einfluß auf den Ablauf der Blutdruckreaktionen und in gewissem Sinne auch der Hirndurchblutung im Cardiazol-

krampfanfall scheint die Narkose zu haben (vgl. Abb. 2 und 5). Es ist auffallend, daß in allen Versuchen mit ausschließlicher Pernoctonvorbereitung und solchen in Urethan-Pernoctonmischnarkose ein initialer, oft recht beträchtlicher Blutdruckabfall vorherrscht, während unter reiner Urethannarkose mit Morphinzusatz stärkere Blutdrucksenkungen als unmittelbare Folge der Cardiazolstoßinjektion niemals beobachtet werden. Trotz flachen Urethanschlafes haben wir eine eigentliche Weckwirkung durch das Cardiazol nicht gesehen. Die mangelhafte Durchbrechung der Urethannarkose durch Analeptica ist ja bekannt; sie beruht wahrscheinlich auf verschiedenen Angriffspunkten.

Man könnte nun auf Grund dieser Erwägungen den Einwand erheben, daß eine Beurteilung der Ergebnisse und das Studium unserer Fragestellung an narkotisierten Tieren zu Fehlschlüssen führen müsse. Deshalb haben wir uns bemüht, da ein Experimentieren ohne Narkose unmöglich war, durch Anwendung verschiedener Narkotica die Fehlerquellen aufzudecken. Daß aber nicht die Wahl des Narkosemittels allein den Reaktionsablauf des Blutdrucks und der Hirndurchblutung bestimmt, erhellt beispielsweise aus den verschiedenen Ergebnissen der Blutdruckmessung im Cardiazolkrampfanfall am unnarkotisierten Kaninchen [Leibel und Hall (7), Lougheed und Hall (9)]. Das eine Mal kam erheblicher Blutdrucksturz, in anderen Versuchen [Lougheed und Hall (9)] Blutdruckanstieg zur Beobachtung. Die Möglichkeit einer Beeinflussung vegetativer Zentren durch die Narkose und wahrscheinlich in stärkerem Grade durch das Pernocton ist für Cardiazolkrampfversuche zuzugeben. Durch die Erfahrungen von Heymans (10) und Gremels (11) u. a. darauf hingewiesen, schenkten wir deshalb auch der Narkose unsere größte Aufmerksamkeit.

Für unsere Fragestellung, inwieweit eine Drosselung der cerebralen Gefäßweite, mit anderen Worten eine „akute Hirnanämie", nach großen Cardiazolgaben einsetzen kann, ist die Narkose keine unübersehbare Fehlerquelle. Aus unseren Versuchen geht hervor, wie geringfügig die Minderdurchblutung zur Zeit des Krampfbeginnes sein kann (Abb. 1). Ferner läßt sich zeigen, daß das Ausmaß der Durchströmungsabnahme in der A. carotis interna in gar keinem Verhältnis zur Schwere des durch Cardiazol erzeugten Krampfzustandes steht. Gerade umgekehrt wie zu erwarten, führt die erhebliche Minderdurchblutung in Abb. 2 nur zu vorübergehendem leichten Zittern, während die minimale Abnahme der Hirnzirkulation (Abb. 1) einen typischen Krampfanfall zur Folge hat. Vollends zweifeln muß man an der führenden Bedeutung einer Hirnanämie beim Entstehen des Cardiazolkrampfes unter Berücksichtigung der Kurven von Abb. 3 und 5. Inwiefern die in diesen Versuchen angewandte Urethannarkose für den andersartigen Ablauf des Blutdrucks und besonders der Hirndurchblutung (primäre Zunahme) verantwortlich ist, sei dahingestellt. Denkbar ist in diesem Falle eine lebhaftere Ansprechbarkeit der vegetativen Zentren auf das Cardiazol; das nachhaltige Steigen der Pulsfrequenzen spricht in diesem Sinne. Durch die Anwendung von Pernocton und Urethan als

Narkoticum scheint das vegetative Nervensystem verschiedenartig beeinflußt zu werden, was aus der Cardiazolreaktion sozusagen im Interferenzversuch erschlossen werden kann. Dies bringt uns auf indirektem Wege der Vorstellung vom Wirkungsmechanismus des „Cardiazolschocks" näher.

Hinsichtlich unserer Feststellungen über das Verhalten der Hirndurchblutung im Cardiazolkrampf stehen wir nicht in Einklang mit den Ergebnissen von Leibel und Hall (7), die mit der modifizierten Thermostromuhr eine langdauernde ausgesprochene Minderdurchblutung im Hirngefäßgebiet unnarkotisierter Kaninchen nach der Stoßinjektion von Cardiazol beobachteten. Zur Erklärung dieser Diskrepanz müssen wir den andersartigen vegetativen Tonus des Kaninchens berücksichtigen, der wahrscheinlich mit verantwortlich ist für den rapiden Blutdrucksturz, über dessen Ausmaß und Dauer keine Angaben gemacht werden, und den ungewöhnlichen Abfall der Durchblutung in der A. carotis und der V. jugularis von ungefähr einstündiger Dauer. Man bekommt aus der graphischen Darstellung der Mitteilung von Leibel und Hall den Eindruck, daß durch die i. v. Cardiazolgabe ein schwerer Kreislaufschock ausgelöst wird.

Die Unstimmigkeiten zwischen denjenigen histologischen Befunden, die sich auf Ganglienzellveränderungen als Folge einer Hirnanämie stützen, und unserem im biologischen Versuch gewonnenen Eindruck der untergeordneten Bedeutung der Hirndurchblutungsänderungen für das Entstehen des Cardiazolkrampfes sind schwer zu überbrücken. Vielleicht ist es denkbar, daß die Umwandlungen der Zellstruktur Ausdruck direkter Einwirkung des Cardiazols auf das Gehirnparenchym sind, wie das v. Meduna (1) annimmt. Es darf nicht verschwiegen werden, daß skandinavische Forscher [Nyberg (12), Andrell und Hanson (13)] überhaupt keine greifbaren morphologischen Veränderungen des Gehirns nach dem Cardiazolkrampf finden konnten.

Wenn man angesichts der uneinheitlichen Ergebnisse der verschiedenen Forschungsrichtungen die Gefäßkrampftheorie des „Cardiazolschocks" nochmal von einer anderen Seite prüfen will, so dürfen jene Versuche nicht außer acht gelassen werden, in denen die Wirkung gefäßerweiternder Stoffe auf den Ablauf des Cardiazolkrampfanfalles beobachtet wurden. Watterson (14) fand am Meerschweinchen eine Verstärkung des Cardiazolkrampfes nach Amylnitrit, und für das Natriumnitrit konnten Stief und Szecsödy (15) eine Begünstigung des Krampfbeginns feststellen. Auch bei Hunden konnte durch Anwendung von Amylnitrit keine Milderung der Cardiazolkrämpfe erzielt werden [Reitmann (16)]. In Versuchen am schizophreniekranken Menschen wurden übereinstimmende Ergebnisse nach interferenter Gabe von gefäßerweiternden Mitteln und Cardiazol nicht erzielt [Denyssen und Watterson (17)]. Ebensowenig sind die Angaben von Watterson und Mac Donald (18) eindeutig zu verwerten, da nur „minimale" Cardiazolkrampfdosen nach Vorbehandlung mit gefäßerweiternden Stoffen wirkungslos waren. Die Anwendung des hirngefäß-

erweiternden Coffeins verstärkte in diesen Versuchen sogar den Cardiazolkrampf: wahrscheinlich begünstigte die analeptische Komponente des Coffeins synergistisch den Krampfzustand.

Auf Grund der erörterten Mitteilungen, deren Aufzählung natürlich keinen Anspruch auf Vollständigkeit hat, und der Deutung unserer eigenen Versuche kommen wir zu der Ansicht, daß Änderungen der Hirndurchblutung bei der Auslösung des Cardiazolkrampfes keine Rolle spielen. Aus äußerem Anlaß ist es uns leider nicht möglich gewesen, die mutmaßliche direkte Beeinflussung vegetativer Zentren experimentell weiter zu verfolgen. Wir möchten deshalb die bemerkenswerten Ergebnisse von Hall (19) anführen, der bei Kaninchen nach vorheriger Gabe von Adrenalin oder Azetylcholin eine wesentliche Herabsetzung der Cardiazolkrampfschwelle und nach Atropinvorbehandlung eine Heraufsetzung derselben feststellen konnte. Dabei ist die Störung des vago-sympathischen Gleichgewichts zweifellos ausschlaggebend für den Ablauf der Cardiazolreaktion gewesen. Es wäre wünschenswert, solche Versuche auf andere Tierarten zu erweitern, um danach auch am Menschen entsprechende Nachprüfungen anstellen zu können. Vorläufig ist man u. E. auch ohne diese Unterlagen berechtigt, in den Beobachtungen von Hall eine weitere Unterbauung der v. Medunaschen Ansicht zu sehen, nämlich: eines direkten Angriffspunktes von Cardiazol auf die Hirnsubstanz.

Zusammenfassung.

Für das Entstehen der Cardiazolkrämpfe sind Änderungen der Hirndurchblutung nicht von grundsätzlicher Bedeutung. Eine dem Krampfanfall vorausgehende Drosselung der Hirnzirkulation wurde nicht beobachtet.

Zufolge dieser Ergebnisse muß der Ansicht v. Medunas beigepflichtet werden, der einen direkten Angriffspunkt des Cardiazols auf die Hirnsubstanz als ausschlaggebend für die Krampfentstehung annimmt.

Literatur.

1) v. Meduna: Arch. Psychiatr. (D.) **102**, H. 4 (1934). — 2) Dreszer u. Scholz: Z. Neur. **164**, 140 (1939). — 3) Rotter u. Krug: Arch. Psychiatr. (D) **111**, 380 (1940). — 4) Bruch: J. Physiol. et Path. gén. **34**, 1198 (1936). — 5) Sántha: Orvosi Hetilap Nr. 24, S. 574; (1938), ref. in Arch. Psychiatr. (D) **109**, 128 (1939). — 6) Fischer: Zit. bei Hildebrandt: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk **5**, 160 (1935). — 7) Leibel u. Hall: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 894 (1938). — 8) Schneider, M. u. D.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 640 (1934). — 9) Lougheed u. Hall: Amer. J. Psychiatry **96**, 657 (1939). — 10) Heymans: Zit. bei Rein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 619 (1937). 11) Gremels: Ebenda **179**, 360 (1935). — 12) Nyberg: Upsala Lük. för. N. F. **43**, 147 (1938); **44**, 267 (1939). — 13) Andrell u. Hanson: Z. Neur. **166**, 537 (1939). — 14) Watterson: J. ment. Sci. **85**, 904 (1939). — 15) Stief u. Szecsödy: Arb. ungar. biol. Forsch.inst. **11**, 272 (1939). — 16) Reitmann: Psychiatr.-neur. Wschr. **40**, 391 (1938). — 17) Denyssen u. Watterson: J. ment. Sci. **84**, 1002 (1938). — 18) Watterson u. Mac Donald: Ebenda **85**, 392 (1939). — 19) Hall: Amer. J. Psych. **95**, 553 (1938).

(Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie-Aktiengesellschaft in Wuppertal-Elberfeld.)

Pharmakologische Untersuchungen über das Xanthopterin*.

Von

Heinrich Hörlein, Wuppertal-Elberfeld.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Juni 1941.)

A. Einleitung.

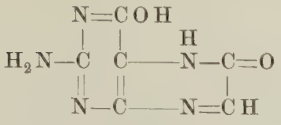
Durch Untersuchungen von F. G. Hopkins (1889) über Flügelpigmente gewisser Schmetterlinge war bekannt geworden, daß diese Stoffe chemisch den Purinen zuzurechnen sind. Dazu gehören beispielshalber der gelbe Farbstoff des Zitronenfalters und der weiße des Kohlweißlings. Der letztere wurde für identisch mit der Harnsäure gehalten. Der Sinn dieser Ablagerung wurde gesehen in einer Ausscheidung stickstoffhaltiger Stoffwechselendprodukte.

Seit dem Jahre 1925 wurde jedoch von Wieland, Schöpf und Mitarbeitern in neuerlichen Untersuchungen über diese Pigmente festgestellt, daß es sich um eine neue Gruppe chemischer Verbindungen handelte, die den Namen Pterine erhielt. Der gelbe Farbstoff wurde als Xanthopterin, der weiße als Leukopterin bezeichnet. Im Verlauf späterer Arbeiten wurden noch eine Reihe anderer Pterine beschrieben. Die Identität des gelben Farbstoffs der Wespe mit dem Xanthopterin wurde festgestellt und an diesem Tiere die Verteilung des Pigments genauer studiert [E. Becker (1)]. Danach wird das Pterinpigment an solchen Stellen der Hypodermis abgelagert, an denen eine geringe Stoffwechselintensität herrscht, im Gegensatz zum Melanin, das gerade an den Stellen mit lebhaftem Stoffwechsel gebildet wird. Die Herkunft des Pigments ist noch unbekannt.

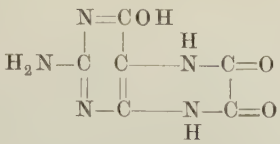
Im Verlauf von Untersuchungen über fluoreszierende Harnfarbstoffe erhielt Koschara (2) im Jahre 1936 einen gelben Farbstoff, das Uropterin, das sich als mit dem Xanthopterin identisch erwies. Durch den Nachweis des Vorkommens auch bei anderen Tierklassen und auch beim Menschen erhielt das Xanthopterin eine erhöhte Bedeutung.

Die chemische Konstitutionsaufklärung ist 1940 Purrmann (3) gelungen, und die für das Xanthopterin und Leukopterin aufgestellten Formeln sind durch Synthese bewiesen worden. Den beiden Stoffen kommen folgende Formeln zu:

* D 19.

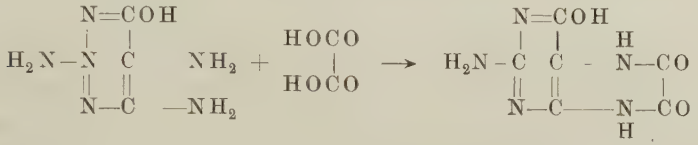


Xanthopterin,



Leukopterin.

Die Synthese erfolgt durch Zusammenschmelzen des 2, 4, 5-Triamino-6-oxy-pyrimidins mit Oxalsäure bzw. Glyoxylsäure:



Leukopterin.

Entsprechend für das Xanthopterin.

In den Formeln kommt die nahe Verwandtschaft der beiden Körper mit der Harnsäure zum Ausdruck. Von ihren Eigenschaften seien einige angeführt. Wie Harnsäure geben sie eine positive Murexidreaktion. Das Xanthopterin läßt sich durch Oxydation mittels Wasserstoffperoxyds in Leukopterin überführen, während das Umgekehrte noch nicht durchgeführt wurde. Das Xanthopterin läßt sich aber auch leicht reversibel reduzieren [Koschara (4)], z. B. schon mit dem auch in jeder Zelle vorhandenen Glutathion. Dieser Vorgang würde sich also vermutlich auch im Organismus abspielen können. Charakteristisch sind ferner die Fluoreszenzerscheinungen beim Xanthopterin. Leukopterin fluoresziert nicht. Schon bei Tageslicht zeigen Lösungen von Xanthopterin deutliche Fluoreszenz, in ultraviolettem Licht ist sie außerordentlich stark. Dem Xanthopterin eigentümlich ist eine starke Blaufluoreszenz in sodaalkalischer Lösung, die in natronalkalischer Lösung gelöscht wird. Die Intensitätsmessung der blauen Fluoreszenz in Sodalösung mit dem Fluoreszenzphotometer gestattet eine quantitative Bestimmung minimalster Mengen des Farbstoffs. Die Methodik ist von Koschara angegeben.

Von Koschara sind über das weitere Vorkommen des Xanthopterins in der Natur umfangreiche Untersuchungen angestellt worden. Als in einem pflanzlichen Ausgangsmaterial wurde es im Heumehl nachgewiesen, die üblichen pflanzlichen Nahrungsmittel enthalten es nicht oder nur sehr wenig. Im Guano konnte es nicht gefunden werden, ebensowenig in frischem Hühnermist oder Schlangenexkrementen. Dagegen findet es sich in menschlichen Fäces und im Harn von Rindern, Pferden und Kaninchen. Außerdem ist das Xanthopterin auch ein ständiger Bestandteil des menschlichen Harnes, in dem es in einer Konzentration von etwa 1 : 1000000 ständig ausgeschieden wird. Ferner wurde von Koschara sein Vorkommen in menschlichen und tierischen Organen erkannt und eingehend untersucht (5). Die Organe mit dem höchsten Gehalt sind stets Niere und Leber. Der

Gehalt schwankt bei den untersuchten Tierarten etwas, liegt aber für die Leber z. B. immer ungefähr zwischen 1—4 mg/kg Organ.

Das ausgeschiedene Xanthopterin wird nach Koschara nicht von außen zugeführt, sondern im Körper selbst gebildet, denn die Ausscheidung hält sich unabhängig von der Art der Nahrung auf gleicher Höhe, ferner ist die mit den Nahrungsmitteln zugeführte Menge des Farbstoffs zu gering, um die Ausscheidung zu erklären, und schließlich vermochte die perorale Zufuhr von 10 mg bei mehreren Versuchspersonen die Konzentration im Harn nicht zu ändern. Bei diesen Versuchen wurde kein Einfluß auf das Befinden der Versuchspersonen festgestellt. In zahlreichen Versuchen wurde die Höhe der Xanthopterinausscheidung bei verschiedenen Krankheiten untersucht (6). In der Zusammenfassung ergab sich eine Erhöhung der Ausscheidung bei allen Zuständen, die mit einem verstärkten Eiweißstoffwechsel verbunden sind, erniedrigte Werte wurden dagegen bei Fällen von hypophysärer Kachexie und Thalliumvergiftung gefunden.

Auf Grund aller Untersuchungen über das Xanthopterin, dessen Haupteigentümlichkeiten im folgenden noch einmal zusammengefaßt werden sollen, kam Koschara zu der Hypothese, daß es sich um einen körpereigenen Wirkstoff handele, der beim oxydativen Stickstoffstoffwechsel eine Rolle spielen müsse. Die Hauptergebnisse sind:

1. Das Xanthopterin ist ein ständiges Ausscheidungsprodukt aller bisher untersuchten Säugetiere und findet sich auch in ihren Organen.

2. Es wird im Organismus selbst gebildet.

3. Es kommt in denjenigen Organen in den höchsten Konzentrationen vor, die auch an anderen Wirkstoffen die reichsten sind, nämlich in Leber und Niere. Diese beiden Organe vermögen auch Aminosäuren zu desaminieren.

4. Der Stoff kommt in Wirkstoffkonzentrationen vor und läßt sich im Experiment unter quasi physiologischen Bedingungen reversibel hydrieren.

Ein experimenteller Nachweis für eine physiologische Funktion des Xanthopterins hat sich bisher noch nicht erbringen lassen. Eine Mitteilung über heilende Wirksamkeit bei der experimentellen Rattenanämie (7) ist nicht bestätigt worden (Rominger siehe Koschara u. Hrubesch, S. 42).

Da Xanthopterin wie Leukopterin jetzt durch Synthese leicht zugänglich geworden sind, konnte ihre pharmakologische Prüfung vorgenommen werden, zugleich mit dem Gedanken, daß sich dabei vielleicht ein Hinweis auf ihr physiologisches Verhalten würde finden lassen. Wegen seiner größeren Handlichkeit (Löslichkeit in Soda) und seiner angenommenen physiologischen Bedeutung beschränkten sich die Untersuchungen hauptsächlich auf das Xanthopterin, während mit dem Leukopterin nur einzelne Stichversuche unternommen wurden.

B. Pharmakologische Wirkungen.

a) Die Toxizität bei Mäusen.

Um festzustellen, ob dem Stoff akute Giftwirkungen zukommen, wurde mit der Bestimmung der Toxizität bei Mäusen begonnen.

3 Mäuse erhielten 1 g/kg mit der Magensonde verfüttert. Während 14tägiger Beobachtungszeit blieben die Tiere völlig munter und zeigten keinerlei Krankheitssymptome.

Als wirksame Darreichungsform erwies sich die intravenöse Injektion. Dazu wurde das Xanthopterin in 2%iger Sodalösung gelöst. Bei leichtem Erwärmen löst es sich darin bis zu 0,5%. Einige Zeit nach dem Abkühlen fällt das Natriumsalz des Xanthopterins in Kristalldrusen aus, die bei neuerlichem Erwärmen wieder in Lösung gehen. Von dieser Lösung, die schon am Tageslicht starke grüngelbe Fluoreszenz zeigt, bzw. von ihren Verdünnungen wurden nüchternen Mäusen von 14—24 g Gewicht wechselnde Mengen intravenös gespritzt. Die Verdünnung wurde so gewählt, daß pro 20 g Maus 0,5 oder 1 ccm gegeben wurde. Die Injektionsdauer betrug mindestens 1 Min. Anschließend wurden die Tiere für 14 Tage beobachtet.

Je 3 Mäuse, die 10 und 20 mg/kg bekamen, blieben am Leben. Nach der Injektion trat, verursacht durch das Soda, krampfhafte Atmung ein, jedoch erholten sich die Tiere alsbald wieder vollständig. Von 10 Mäusen, die 50 mg/kg bekamen, starben im Verlauf der Beobachtungszeit 9, und zwar durchschnittlich nach $5^1/_2$ Tagen. Davon scheiden 2 wegen infektiöser Lungenprozesse aus. 3 Mäuse mit 100 mg/kg starben sämtlich nach durchschnittlich 4 Tagen. Im Kontrollversuch vertrugen 3 Mäuse außer den schon erwähnten anfänglichen Störungen die Injektion von 1 ccm/20 g 2%iger Sodalösung ohne krankhafte Erscheinungen.

Die tödliche Dosis liegt also bei etwa 50 mg/kg Maus. Es ergibt sich die Notwendigkeit einer genügend langen Beobachtungszeit.

Als weitere Applikationsform wurde die intraperitoneale Injektion gewählt. Hierzu wurde das Xanthopterin mit etwas Tragant und abgemessener Menge dest. Wassers zu einer Emulsion verrieben. 3 Mäuse mit 50 mg/kg überlebten, 3 Mäuse mit 100 mg/kg starben nach durchschnittlich 8 Tagen, 3 Mäuse mit 200 mg/kg nach $1^1/_2$ Tag. Die tödliche Dosis liegt bei dieser Applikationsform also etwa um 100% höher als bei der intravenösen Injektion. Der Unterschied erklärt sich aus verlangsamter Lösung und Resorption der Injektionsflüssigkeit, die bei den Sektionen zum Teil noch in der Bauchhöhle vorgefunden wurde.

Zur Klarstellung der Todesursache wurden die Leichen, soweit angängig, seziert. Dabei fand sich neben teilweise noch nicht vollständig resorbierter Injektionsflüssigkeit bei den intraperitoneal gespritzten Tieren fast regelmäßig eine makroskopisch erkennbare Anschoppung der Nieren. Von 2 Tieren mit der höchsten intraperitonealen Dosierung wurden die Nieren histologisch untersucht. Es fanden sich an den Glomeruli wenig Veränderungen, dagegen waren die Tubulusepithelien teilweise nekrotisch, in den betroffenen Gebieten zeigten die Kerne Pyknose. In den Harnkanälchen fanden sich zahlreiche Kristalle (Abb. 1), die in einer zum Vergleich untersuchten normalen Mäuseniere nicht aufgefunden werden konnten. Diese Kristalle lösten sich nicht beim Durchführen von Schnitten durch 10%ige Essig- und Salzsäure, dagegen leicht in 10%igem Ammoniak. Unter dem Polarisationsmikroskop erwiesen sie sich als doppelbrechend.

In trockenem Zustand und beim Versetzen mit 2 %iger Sodalösung zeigten sie keine Fluoreszenz.

Xanthopterin zeigt in trockenem Zustand ebenfalls keine Fluoreszenz, ist aber nicht kristallisiert zu erhalten, das kristalline Na-Salz ist nur bei stark alkalischer Reaktion beständig.

Diese Beobachtungen sprechen dagegen, daß es sich um unverändertes Xanthopterin handelt. Die Natur der Kristalle muß daher noch als ungeklärt angesehen werden.

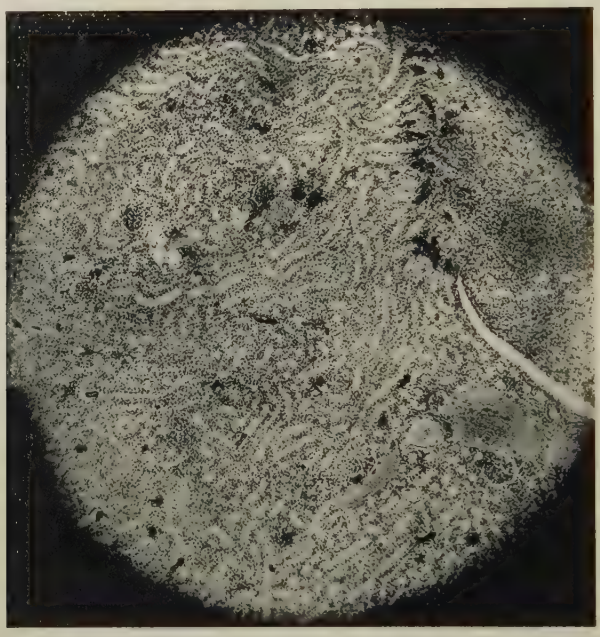


Abb. 1. Mäuseniere, 200 mg/kg Xanthopterin.

Die Menge der Kristalle reichte keineswegs aus, um die Schädigung der Nieren auf mechanischem Wege zu erklären, etwa durch Verstopfung der Kanälchen und Harnstauung.

b) Die Toxizität des Leukopterins bei Mäusen.

In Analogie zu den vorstehend geschilderten Versuchen wurde versucht, in gleicher Weise die Toxizität des Leukopterins in Mäuseversuchen zu ermitteln. Das Präparat löst sich nicht in Soda, sondern erst in n/10-Natronlauge in genügender Konzentration.

3 Mäuse erhielten 500 mg/kg in Form der Tragantemulsion intraperitoneal. Sie blieben während der 14tägigen Beobachtungszeit am Leben. Von 3 weiteren Mäusen mit 1000 mg/kg starben 2 nach durchschnittlich 6 Tagen, 1 überlebte. Die tödliche Dosis bei dieser Applikationsart liegt mit 1 g/kg also schon sehr hoch

Zur intravenösen Injektion wurde die Lösung in n/10-Natronlauge verwendet. Im Vorversuch zeigten 3 Mäuse, denen 1 ccm 20 g n/10-Natronlauge injiziert wurde, nach der Injektion Mattigkeit und verlangsamte krampfhafte Atmung. Sie erholten sich jedoch nach einiger Zeit wieder und zeigten bei dreitägiger Beobachtung keine weiteren Erscheinungen. Es wurden nun wechselnde Mengen von Leukopterin gelöst in Natronlauge injiziert, die Menge ging nicht über 1 ccm 20 g hinaus. 2 Mäuse mit 250 mg kg starben während der Injektion. Von 3 Mäusen mit 125 mg kg starb eine im Anschluß an die Injektion, eine am nächsten Tag, 1 überlebte. Von 6 Mäusen mit 50 mg kg starben 5 noch am Tage der Injektion, 1 überlebte 14 Tage. 5 Mäuse mit 25 mg kg zeigten nach der Injektion nur verhältnismäßig geringe Erscheinungen und überlebten sämtlich 14 Tage.

Es konnte nicht geklärt werden, ob es sich dabei um echte resorptive Giftwirkungen handelt oder aber ob die Todesursache in einem Auskristallisieren des Leukopterins in der Blutbahn und dadurch veranlaßte multiple Embolien zu erblicken ist.

c) Vergiftungsbild mit Xanthopterin bei Kaninchen.

Zur Klärung der Frage nach Art der Giftwirkung wurden Versuche an Kaninchen unternommen und — im Hinblick auf die beobachteten Nierenveränderungen bei Mäusen — laufende Untersuchungen der gesamten Blutchemie und des Harnes vorgenommen*. Bei peroraler Gabe mit der Magensonde wurden keine Veränderungen gefunden, wie aus Tabelle 1 hervorgeht.

Tabelle 1.

Kaninchen 70. Am 21. I. 200 mg/kg per os. Keine Veränderung außer einer durch die fortgesetzten Blutabnahmen bedingten Anämie.

Dat.	Gew. kg	Hb. %	Ery. Mill.	Leukoz.	Blutz. mg%	Ca mg%	RN mg%	Ges.-Eiw. mg%	NaCl mg%	Harnst. Stickstoff mg%	Aminos. Stickstoff mg%	Alb. im Harn
21. I.	2,3	67	4,81	6500	139	12,4	32	1060	574	10,7	8,1	—
23. I.	2,35	60	4,97	9150	122	11,6	31	950	585	14,7	7,7	op.
27. I.	2,3	64	4,74	4700	123	12,8	27	850	609	12,2	6,6	op.
29. I.	2,45	55	4,71	6660	117	13,1	30	1020	578	11,2	6,5	—
31. I.	2,4	52	3,97	3600		11,8	24	970	637	11,7	5,2	op.
3. II.	2,25	55	4,05	7700	117	11,6	31	960	617	9,4	7,7	op.

Deutliche, und zwar nach der Dosis abgestufte Veränderungen ergaben sich jedoch nach intravenöser Injektion der oben beschriebenen 0,5%igen Lösung in 2%iger Soda (Tabelle 2 und 3).

Drei Veränderungen fallen besonders auf: Die Erniedrigung des Calciumspiegels, die Erhöhung des Nichteiweißstickstoffs und des Blutreduktionswertes. Die Vergiftung mit 50 mg/kg verlief tödlich. In weiteren

* Die Untersuchungen, die in Tabelle 1, 2 und 3 niedergelegt sind, wurden von Dr. G. Hecht durchgeführt und mir freundlicherweise überlassen.

Tabelle 2.

Kaninchen 112. Am 21. I. 20 mg kg Xanthopterin i. v. Deutliche Steigerung des RN und seiner Fraktionen und des Blutzuckers. Am 27. I. tonisch-klonische Krämpfe (Blutkalk etwa 7,8 mg%!).

Dat.	Gew. kg	Hb. %	Ery. Mill.	Leukoz.	Blutz. mg%	Ca mg%	RN mg%	Ges.-Eiw. mg%	NaCl mg%	Harnst. Stickstoff mg%	Aminos. Stickstoff mg%	Alb. im Harn
21. I.	2,05	87	6,41	9 000	115	13	31	995	597	13,3	7,0	trüb
23. I.	2,15	75	4,8	8 100	150	9,4	98	1030	538	68,6	6,6	kein H
25. I.	1,9	62	4,68	9 000	152	6,2	110	1080	572	82,1	5,1	kein H
27. I.	1,8	61	4,79	10 400	172	7,8	84	1130	585	62,1	6,6	trüb
29. I.	1,9	45	3,82	7 000	117	10,6	56	1010	578	33,1	7,0	trüb
31. I.	1,95	46	3,44	8 600	117	11,3	38	940	572	15,9	6,5	Spur
3. II.	1,9	47	4,11	3 100	127	11,6	31	970	617	8,4	8,9	Spur

Tabelle 3.

Kaninchen 104. Am 21. I. 50 mg kg Xanthopterin i. v. Starke Steigerung des RN und des Blutzuckers. Exitus am 27. I. nach der Blutentnahme. Vorher krampfartige Zuckungen (Blutkalk gesenkt auf 9,2 mg %).

Dat.	Gew. kg	Hb. %	Ery. Mill.	Leukoz.	Blutz. mg%	Ca mg%	RN mg%	Ges.-Eiw. mg%	NaCl mg%	Harnst. Stickstoff mg%	Aminos. Stickstoff mg%	Alb. im Harn
21. I.	2,7	88	6,27	9 300	120	14,8	28	1025	602	8,76	7,1	—
23. I.	2,7	79	5,11	13 050	173	13,8	95	1030	550	56,8	7,1	kein H
25. I.	2,6	60	4,67	12 900	179	12,2	167	1080	552	126,8	6,6	kein H
27. I.	2,5	60	3,97	17 000	226	9,2	264	1330	567	188,5	6,5	kein H

Versuchen starben von 2 Kaninchen mit 20 mg/kg keines, von 4 Tieren mit 30 mg/kg 3 und ein weiteres mit 50 mg/kg. Die tödliche Dosis für Kaninchen intravenös liegt also bei 30 mg/kg.

Im Anschluß an die Injektion traten niemals Erscheinungen auf. Erst vom 3.—4. Tage an wurden gelegentlich Krämpfe beobachtet, meist im Anschluß an eine Blutentnahme. Der Tod trat schließlich in einem comatösen Zustand am 5.—8. Tage ein. Die Harnmenge war in den ersten Tagen vermindert, zuweilen wurde überhaupt kein Harn erhalten, später wurden oft ziemlich große Mengen entleert. Wenn eine Untersuchung möglich war, wurde im Harn regelmäßig eine Eiweißausscheidung gefunden, die Zuckerprobe im Harn war stets negativ.

Von den Fraktionen des Reststickstoffs wurde noch das freie und das gesamte Kreatinin bestimmt. Gleichsinnig mit der Erhöhung des RN ging auch dieser Wert in die Höhe. Als höchster Wert wurde gefunden 9,8 Gesamtkreatinin am 3. Tage nach 30 mg/kg Xanthopterin.

Die beobachteten Krämpfe, die von tonisch-klonischem Typ waren, fielen immer mit einer maximalen Senkung des Calciumwertes zusammen. Ihre Entstehung scheint somit erklärt zu sein.

Die Blutkalksenkung ist nicht für die Xanthopterinvergiftung spezifisch, sondern eine Folge der Niereninsuffizienz, wie sie auch in der menschlichen Pathologie beobachtet wird. Der tiefere Zusammenhang dieser Erscheinung mit der Niereninsuffizienz ist unbekannt. Es ist diskutiert worden [Becher (10)], daß hierfür eine Oxalatretention verantwortlich zu machen sei. Auf Grund einer Arbeit von P. B. Müller sind aber die bisherigen Oxalatbestimmungen im Blute als zweifelhaft anzusehen. Es bleibt also abzuwarten, ob sich die angebliche Erhöhung des Oxalatspiegels bei Niereninsuffizienz bzw. Urämie mit einwandfreier Methode bestätigen wird.

Die eingegangenen Tiere wurden regelmäßig seziert. Als Beispiel sei der Sektionsbefund des Kaninchens 104 (Tabelle 3), gest. am 6. Tage nach 50 mg/kg Xanthopterin, angeführt.

Lunge und Herz o. B. Pleuraerguß, Herzbeutelerguß, Ascites. Leber groß mit ausgeprägter Läppchenzeichnung. Niere: groß, äußerlich blaß. Auf dem Schnitt ist das Mark hyperämisch und geschwollen, Rinde blaß, schmale gelblich gefärbte Zwischenschicht.

Mit Ausnahme des Ergusses in die 3 Körperhöhlen, der durchaus nicht immer gefunden wurde, war der Befund bei allen anderen Tieren derselbe. Von 3 Tieren wurde Herz, Leber, Niere und Nebenniere und von 2 Tieren auch Teile des im Netz verstreut liegenden Pankreas eingelegt und histologisch untersucht. Färbung mit H. E. und bei Leber, Niere und Nebenniere auch mit Sudan. Die Befunde seien kurz wiedergegeben.

1. Kaninchen 5. 50 mg/kg Xanthopterin i. v., gest. am 8. Tage nach der Injektion.

Niere: Teilweise Nekrose der Tubulusepithelien mit hyalinen Ausgüssen in den Harnkanälchen. Einzelne hyalinisierte Glomeruli, einige wenige Kristalle (Abb. 2).
Leber: Cirrhose mit Gallengangswucherungen (alte Coccidiose). Daneben einzelne frische herdförmige Nekrosen mit Blutungen, Verfettung und entzündlicher Reaktion.
Herz und Nebennieren: Normal.
Pankreas: Nicht scharf abgegrenzte Nekrosen.

2. Kaninchen 105. 30 mg/kg Xanthopterin i. v., gest. am 6. Tage p. i.

Niere: Stellenweise Tubulusnekrose mit hyalinen Ausgüssen.
Leber: Cirrhose und Gallengangswucherungen.
Herz und Nebenniere: o. B.

3. Kaninchen 15. 30 mg/kg Xanthopterin i. v.

Nebenniere: o. B.
Leber: Alte Coccidiose. Kleine herdförmige Verfettungen.
Niere: Tubulusnekrose.
Pankreas: Diffuse Zellschädigungen mit verminderter Färbbarkeit und teilweiser Pyknose der Kerne.

Regelmäßig wurden die vorwiegend an den Tubuli lokalisierten Nierenschädigungen gefunden, die die beobachtete Funktionsstörung ausreichend

erklären. In den Nekrosen im Pankreas wird die Erklärung für den gestörten Zuckerstoffwechsel zu suchen sein. Lebernekrosen wurden zweimal gefunden und stehen in keinem ersichtlichen Zusammenhang mit den übrigen Veränderungen.

d) Das Verhalten des Blutzuckers.

Als auffallender Befund wurde bei der chemischen Untersuchung des Blutes von xanthopterinvergifteten Tieren stets eine Erhöhung der Blutzuckerwerte nach Hagedorn-Jensen festgestellt. Diese Erhöhung

Abb. 2. Kaninchenniere. Kaninchen 5. 50 mg/kg Xanthopterin.

ging ebenfalls parallel der Stärke der Vergiftung und erreichte Werte bis zu 230 mg%. Stets traten Zucker- und Rest-N-Anstieg gleichzeitig auf. Auch durch andersartige Dosierung (Verzettelung) ließ sich nicht eines der beiden Symptome isoliert erzeugen. Beide erreichten ihren Höhepunkt zur gleichen Zeit.

Da bei der Retention der harnpflichtigen N-Substanzen auch eine ganze Reihe von Stoffen zurückgehalten werden, die einen erhöhten Reduktionswert vortäuschen könnten, mußte zuerst gesichert werden, daß es sich bei der gefundenen Erhöhung der Reduktion im Blute auch tatsächlich um Zucker handelte. Bei der Enteiweißung mit Zinkhydroxyd nach Hagedorn-Jensen werden bereits alle reduzierenden Nichtzuckersubstanzen weitgehend ausgefällt. Zur Kontrolle wurden parallele Zucker-

bestimmungen ausgeführt nach einer Methode von Fujita und Iwatake, bei der mit Cadmiumhydroxyd enteiweißt wird. Nach diesem Verfahren sollen zumindest Harnsäure, Ergothionein und Glutathion vollständig, Kreatinin zum überwiegenden Teil ausgefällt werden. Tatsächlich findet man die Zuckerwerte bei dieser Bestimmungsmethode etwas niedriger als nach Hagedorn-Jensen. Die Unterschiede können aber praktisch nicht ins Gewicht fallen (Tabelle 4 und 5).

Tabelle 4.

Kaninchen 54. 30 mg/kg Xanthopterin. Vergleich der verschiedenen Zuckerbestimmungsmethoden (Zucker 1 nach Hagedorn-Jensen, Zucker 2 nach Fujita und Iwatake).

Datum	Gewicht kg	Harnzucker	Harneiweiß	Zucker 1	Zucker 2
4. II.	2,55	—	—	112	110
7. II.	2,25	—	++	234	230
8. II.	2,1	—	++	204	201
10. II.	2,05	—	+	140	142
13. II.	1,95	—	+	116	116

Zur weiteren Sicherstellung wurde ein Kaninchen mit Sublimat behandelt, und bei der so erzeugten Urämie das Blut untersucht (Tabelle 5).

Tabelle 5.

Kaninchen 97. Am 10. II. 9 ccm einer 0,2%igen Lösung von $HgCl_2$ subcutan = 10 mg/kg.

Datum	Gewicht	Harneiweiß	Zucker 1 mg%	Zucker 2 mg%	Kreatinin mg%	Ges.-Kreatinin mg%	RN mg%
7. II.	1,75	op.	106	91	3	4	40
11. II.	1,75	++	134	121	—	—	80,4
13. II.	1,65	+++	128	123	12,0	28,7	194,0
15. II.	gestorben						

Aus der letzten Tabelle geht ganz klar hervor, daß selbst beträchtliche Erhöhung des Rest-N und des angeblich auch bei der 2. Methode nicht vollständig ausgefällten Kreatinins den Reduktionswert des Blutes nach Hagedorn-Jensen nicht sehr erheblich ansteigen läßt. Die Resultate der 2. Methode lagen allerdings diesmal deutlich tiefer. Im folgenden wurde nur noch die einfachere Methode nach Hagedorn-Jensen benutzt.

Zur näheren Analyse der Zuckerregulationsstörung wurde das Verhalten des Blutzuckers nach Glucosebelastung geprüft. Es wurde zweimal im Abstand von $^5/_4$ Stunden je 1 g Glucose mit der Sonde verabreicht und der Blutzucker viertelstündlich bestimmt. Das Resultat zeigen die Kurven der Abb. 3.

Während normalerweise der Anstieg nach der 1. Gabe nur gering ist und nach der 2. überhaupt keiner mehr stattfindet, zeigt sich bei den behandelten Tieren ein Verhalten, wie es auch in ganz ähnlicher Weise beim Pankreasdiabetes des Menschen beobachtet wird. Gedeutet wird dieser Befund als mangelhafte Inselfunktion mit ungenügender Insulinausschüttung. Zugleich zeigt das pathologische Verhalten des Blutzuckers

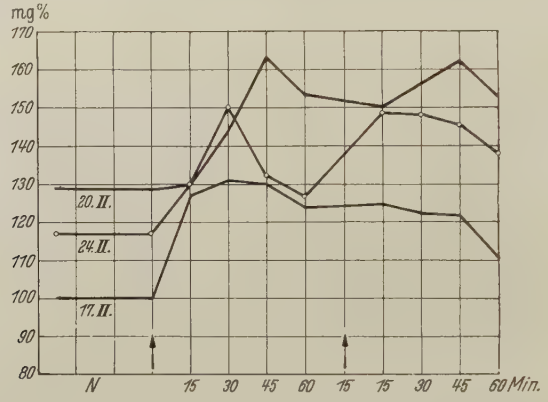


Abb. 3. Kaninchen 68. Blutzuckerkurven nach 2maliger Belastung mit jeweils 1 g Glucose. Am 17. 2. 20 mg/kg Xanthopterin.

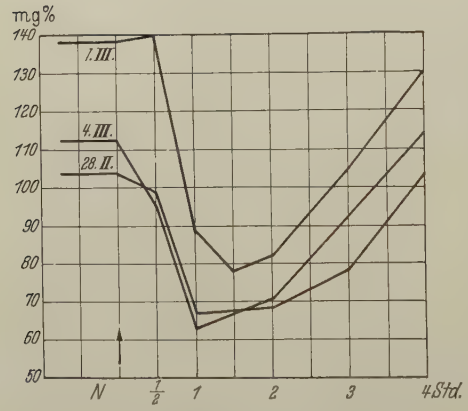


Abb. 4. Blutzuckerkurven nach Gabe von 0,1 mg/kg Adrenalin s. c. Am 4. 3. 30 mg/kg Xanthopterin.

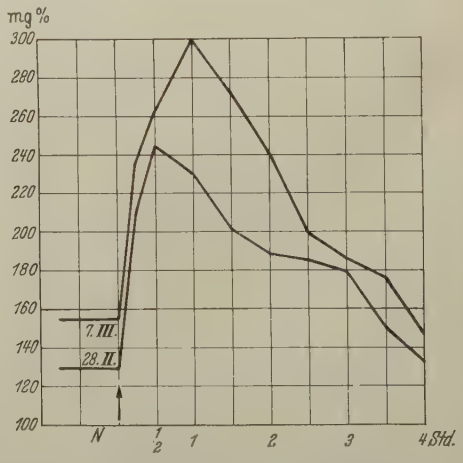


Abb. 5. Blutzuckerkurven nach Gabe von 0,2 E/kg Insulin. Am 4. 3. 30 mg/kg Xanthopterin.

nach Belastung auch dann noch eine Störung der Zuckerregulation an, wenn der Nüchternwert schon wieder normal ist, ebenfalls in Übereinstimmung mit dem menschlichen Diabetes.

Weiterhin wurde das Verhalten des Blutzuckers nach Gabe von Adrenalin und Insulin untersucht. Das Resultat zeigt Abb. 4 und 5.

Beide Versuche haben keine besonderen Veränderungen im Verlauf des Blutzuckers erkennen lassen, abgesehen von den verschieden hohen Ausgangswerten.

Auffallend bei der Hyperglykämie ist, daß kein einziges Mal Zucker im Urin nachgewiesen werden konnte. Diese Tatsache erklärt sich durch die stets gleichzeitig eingetretene Nierenschädigung, bei der auch für den Menschen eine Erhöhung der Nierenschwelle für Zucker bekannt ist. Wegen der Ähnlichkeit mit dem menschlichen Diabetes und den mikroskopisch festgestellten Pankreasveränderungen kann man die ganze Störung im Zuckerhaushalt wohl auf eine Schädigung der Pankreasfunktion beziehen, die bei leichten Vergiftungen allerdings vollständig wieder rückbildungsfähig ist.

e) Vergiftungsbild bei Katzen.

Als auf den Vertreter einer ganz anders konstituierten Tierart wurde auch der Einfluß des Xanthopterins auf die Katze untersucht. Die Bestimmung der ganzen Blutchemie ist bei der Katze erschwert, jedoch läßt sich neben der Untersuchung des Harns die Bestimmung des Blutzuckers relativ leicht durchführen. Es wurde nun bei Katzen eine auffallend größere Empfindlichkeit gegenüber dem Gift festgestellt als bei Kaninchen und Mäusen. Je eine Katze mit 50 und 25 mg/kg i. v. starb am zweiten Tage nach der Injektion, je eine mit 10 und 7,5 mg/kg nach 4 bzw. 6 Tagen und schließlich 2 Tiere mit 5 mg/kg nach 6 Tagen. Bei den beiden letzteren Tieren wurden allerdings bei der Autopsie pneumonische Herde in beiden Lungen gefunden. Die tödliche Dosis steht also noch nicht fest, sie ist aber jedenfalls wesentlich kleiner als bei Kaninchen und Mäusen.

In allen Fällen enthielt der Urin teilweise beträchtliche Mengen von Eiweiß, bei den Tieren mit hohen Dosen war zuweilen auch die Fehlingsche Zuckerprobe positiv. Bei dem Tier mit 7,5 mg/kg betrug der Blutzucker am 3. Tage nach der Injektion 168 mg% gegen 80 vorher, bei einem Tier mit 5 mg/kg 138 mg% gegen 73 vorher.

Alle Tiere wurden nach ihrem Tode seziert. In allen Fällen fanden sich makroskopisch ähnliche Veränderungen wie bei den Kaninchen: Die Nierenrinden waren blaß, bei den Tieren mit hohen Dosen sogar intensiv gelb gefärbt und sehr deutlich gegen das gerötete Mark abgesetzt. Verschiedentlich wurden die Organe histologisch untersucht. Die Befunde seien kurz aufgeführt:

1. Katze 179. 50 mg/kg Xanthopterin i. v., gest. am 2. Tage p. i.

Leber, Milz und Herz: Ohne Besonderheiten.

Niere: Stellenweise großtropfige degenerative Verfettung der Tubulusepithelien. Hyaline Ausgüsse der Harnkanälchen und einzelne Kristalle. Glomeruli ohne wesentliche Schädigung (Abb. 6).

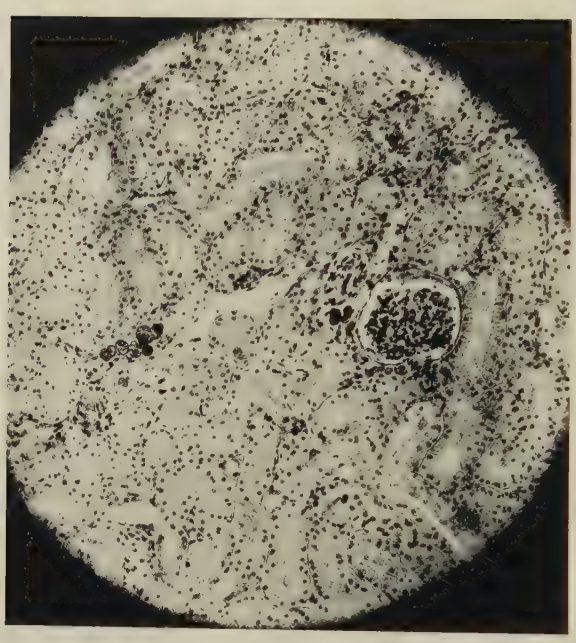


Abb. 6. Katze 179. Niere.

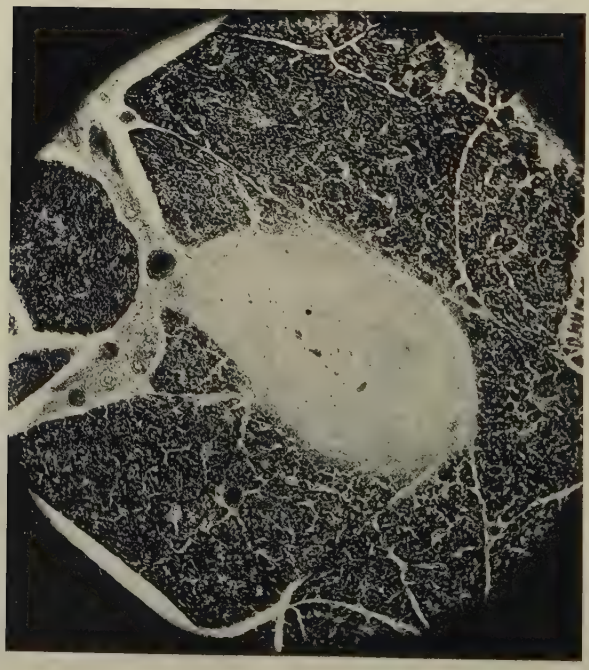


Abb. 7. Katze 179. Pankreas.

Nebenniere: Degenerative Verfettungsherde in der Rinde.
Pankreas: Herdförmige Nekrosen bis zu völligem Schwund der Kerne und Homogenisierung des Gewebes (Abb. 7).

2. Katze 172. 25 mg/kg i. v., gest. am 2. Tage p. i.

Leber, Herz, Milz und Nebenniere: o. B.
Niere: Glomeruli intakt. Ausgedehnte Tubulusnekrosen, hyaline Ausgüsse, einzelne Kristalle.
Pankreas: Herdförmige Nekrosen bis zur Homogenisierung des Gewebes.

3. Katze 2. 7,5 mg/kg i. v., gest. am 6. Tage p. i.

Niere: Zum Teil nekrotische Tubuli, hyaline Ausgüsse und vereinzelte Kristalle.
Leber: Übermäßiger Blutreichtum, zum Teil Blutungen ins Gewebe.

Wieder fanden sich wie bei den Kaninchen auch bei den Katzen regelmäßig Nierenveränderungen, und zwar vorwiegend an dem tubulären Teil. In den beiden untersuchten Bauchspeicheldrüsen fanden sich ebenso diesmal sehr deutliche Nekrosen, die sich nicht auf das Inselgewebe beschränkten. Es handelt sich also bei der Katze um dieselben Erscheinungen wie beim Kaninchen, nur daß sie wesentlich empfindlicher gegen das Gift ist.

f) Weitere Untersuchungen.

In Mäuseversuchen wurde nach einer photodynamischen Wirkung gesucht, wie sie von anderen fluoreszierenden Farbstoffen bekannt ist. Dazu wurde 3 Mäusen unter die geschorene Rückenhaut 10 mg/kg Xanthopterin (Sodalösung verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung) injiziert und die Tiere 3 Stunden über Mittag dem vollen Sonnenlicht ausgesetzt (9). Unterschiede gegenüber gleich behandelten, aber im Dunkeln gehaltenen Tieren ließen sich nicht feststellen.

Es wurde weiterhin untersucht, ob das Xanthopterin Wirkungen auf den Stoffwechsel hat, die sich in einer Änderung des Gasstoffwechsels äußern. Die Untersuchungen wurden durchgeführt an Meerschweinchen mittels des Kleintierrespirometers nach G. Hecht. Die Tabellen 6 und 7 geben die Ergebnisse wieder.

Vorher wurde in zweimaligem Versuch über je 3 halbe Stunden die Konstanz der Normalwerte festgestellt.

Tabelle 6.

Meerschweinchen schwarz-weiß-braun, 270 g. Um 10,30 Uhr wurden 50 mg/kg Xanthopterin intramuskulär gegeben. In der ersten Zeit nach der Injektion war das Tier sehr unruhig.

Zeit:	9^{30}–10	10–10^{30}	10^{45}–11^{15}	11^{15}–11^{45}	11^{45}–12^{15}	12^{15}–12^{45}
O_2/Std.	246	239	357	232	240	237
CO_2/Std.	199	194	365	196	185	187
RQ.	0,81	0,81	1,02	0,85	0,77	0,79

Tabelle 7.

Meerschweinchen rot-weiß. 300 g. 1 Tag nach der Injektion von 50 mg/kg Xanthopterin.

Zeit:	9^{30}–10	10–10^{30}	10^{30}–11
O_2/Std.	265	275	297
CO_2/Std.	211	215	230
RQ.	0,8	0,78	0,8

Tabelle 7a.

Dasselbe Meerschweinchen wie in Tabelle 7. Leerversuch.

Zeit:	9^{30}—10	10—10^{30}	10^{30}—11
O_2/Std.	292	274	276
CO_2/Std.	225	218	226
RQ.	0,77	0,8	0,8

Nach der Injektion findet sich also eine starke Erhöhung des O_2-Verbrauchs, der CO_2-Ausscheidung und des RQ., bedingt durch die starke Unruhe des Tieres. Dann stellten sich die normalen Verhältnisse rasch wieder her. Auch am Tage nach der Injektion ließ sich kein Unterschied zum normalen Verhalten feststellen.

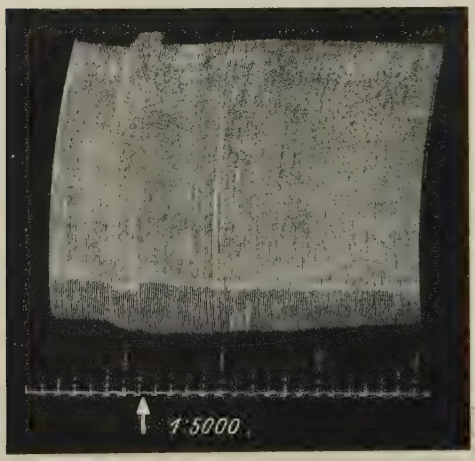


Abb. 8. Beim Pfeil Zugabe einer Lösung von Xanthopterin in der Verdünnung von 1:5000.

Zur Prüfung einer Wirksamkeit auf das isolierte Froschherz wurde die sodaalkalische Lösung des Xanthopterins mit Froschringerlösung stark verdünnt und mit der berechneten Menge Salzsäure genau neutralisiert. Dies gelingt bis zu einer Konzentration von 1 : 5000. Konzentriertere Lösungen fallen beim Neutralisieren aus. Eine Wirksamkeit auf das Froschherz wurde nicht gefunden. Als Beispiel diene Abb. 8.

g) Fragen der Resorption und des Verhaltens des Giftes im Organismus.

Nach den Ergebnissen von Koschara wurde bei einer täglichen Gabe von 10 mg die Ausscheidung im Urin beim Menschen nicht erhöht. Die Frage, ob der Farbstoff im Magendarmtrakt zerstört oder nicht resorbiert wird, bleibt offen.

Bei den Versuchen mit peroraler Fütterung wurde an Mäusen und Kaninchen keinerlei Wirkung festgestellt. Zur Beantwortung der Frage, ob bei längerdauernder peroraler Gabe nicht doch eine Wirkung eintritt, wurden Fütterungsversuche an Mäusen während 3 Wochen angesetzt. Aus Reis und Milch wurde unter Zusatz von 5% Mc Collumscher Salzmischung und 0,1% Xanthopterin und Leukopterin durch Trocknen eine feste Nahrung hergestellt. Zum Versuch dienten jeweils 10 Mäuse, sie bekamen außerdem noch etwas Hefe und Vitamin A. Die täglich gefressene Menge wurde durch Zurückwiegen bestimmt. Jede Maus nahm von dem Futter täglich etwa 2—3 g, also 2—3 mg Xanthopterin oder Leukopterin zu sich. Bei einem Gewicht der Maus von etwa 20 g bedeutet das eine tägliche Dosis von 100—150 mg/kg. Nach 3 Wochen waren von den Leukopterintieren keines, von den Xanthopterintieren eines und von 20 Kontrollen 3 gestorben.

Der Versuch wurde solange fortgesetzt, bis schließlich fast alle Tiere wegen der wohl doch unzureichenden Nahrung eingegangen waren. Auch jetzt zeigte sich kein Unterschied bei den verschiedenen Futtersorten. Eine perorale Wirksamkeit scheint also weder beim Leukopterin noch beim Xanthopterin zu bestehen.

An 2 Kaninchen wurde die Frage studiert, ob dem Gift kumulierende Eigenschaften zukommen. Eines davon bekam täglich 10 mg/kg Xanthopterin i. v. Vom 2. Tage ab zeigte sich Gewichtsabnahme und war die Eiweißprobe im Harn positiv. Am Tage nach der 8. Injektion starb das Tier. Die Sektion ergab das Vorliegen der typischen Nierenschädigung.

Das 2. Tier bekam täglich 5 mg/kg intravenös, mit einer Pause von 9 Tagen nach den ersten 8 Injektionen wegen des schlechten Zustandes der Ohrvenen. In der ersten Periode wurde mehrfach Blutzucker und Rest-Stickstoff bestimmt, der jedesmal normale Werte lieferte, ebenso eine Glucosebelastung. In der 2. Periode wurde zur Schonung des Ohres nur gelegentlich ein Blutzucker bestimmt, der auch immer in den normalen Grenzen lag. Insgesamt erhielt das Tier 32 Injektionen, d. h. 160 mg/kg. Während dieser Zeit stieg das Gewicht von 2,55 auf 2,8 kg an, die Eiweißprobe im Harn ergab nur gelegentlich leichte Opaleszenz. Als 33. Injektion wurde eine Dosis von 50 mg/kg verabfolgt. Daraufhin sank das Gewicht und die Eiweißprobe im Urin wurde stark positiv. Jedoch erholte sich das Tier trotz der sonst unbedingt tödlichen Dosis wieder.

Das Gift vermag also bei Kaninchen in einer Dosis von etwa $^1/_3$ der tödlichen bei täglich wiederholter Injektion zu kumulieren, nicht jedoch in einer solchen von $^1/_6$. Oder anders ausgedrückt: das Kaninchen vermag eine Menge von 5 mg/kg Xanthopterin täglich zu entgiften. Eine gewisse Gewöhnung tritt offenbar ein, so daß später größere Dosen vertragen werden.

Die Verteilung des Giftes im Organismus wurde an der Katze studiert. Die Bestimmung des Xanthopterins in den Organen erfolgte nach der von Koschara angegebenen Weise in etwas vereinfachter Form. Tabelle 8 gibt zunächst den Gehalt normaler Katzenorgane an Xanthopterin.

Tabelle 8. Xanthopteringehalt der Organe einer normalen Katze.

	mg pro kg frisches Organ		mg pro kg frisches Organ
Leber	2,52	Milz	1,2
Niere	2,2	Muskel	0,8
Pankreas	2,4	Blut	—

Beim Vergleich mit den von Koschara angegebenen Werten für die Organe von Rind, Schwein, Kaninchen und Mensch muß bemerkt werden, daß es sich auch um Kleinversuche mit 4—10 g handelt, die, wie von

Koschara angegeben, allgemein etwas höhere Werte ergeben als Großversuche. Im übrigen stimmen die Werte von der Katze gut mit denen bei anderen Tieren überein.

Tabelle 9. Xanthopteringehalt der Organe einer Katze, die 4 Stunden nach Injektion einer Dosis von 50 mg getötet wurde.

	mg/kg	Absolut mg
Leber	7,5	0,54
Niere	790,0	23,7
Pankreas	14,4	0,122
Milz	6,7	0,04
Muskel	8,4	6,0
Blut	2,75	0,604
Harn	58,0	0,87
		31,88

Tabelle 9 gibt den Xanthopteringehalt der Organe einer Katze, die 4 Stunden nach der Injektion von insgesamt 50 mg getötet wurde. Es wurden also $^3/_5$ der gespritzten Gesamtdosis wiedergefunden, wobei zu berücksichtigen ist, daß die gefundenen Werte nur annähernd stimmen können. Insbesondere ist damit zu rechnen, daß aus den an Xanthopterin besonders reichen Organen der Farbstoff nicht quantitativ extrahiert wurde, obgleich der Rückstand nach Pyridinbehandlung noch einmal mit Sodalösung behandelt und dadurch noch eine gewisse Menge herausgelöst wurde.

Nach 4 Stunden ist also nur noch wenig Farbstoff im Blute zurückgeblieben, und fast die Hälfte konnte allein in der Niere und im Harn wiedergefunden werden. Die Konzentration im Harn ist etwa nur 20mal höher als in normalem Harn, die Niere vermag also mit der großen erforderlichen Leistung nicht fertig zu werden. So ist ihre Schädigung verständlich. Die Konzentration im Pankreas ist wohl doppelt so groß wie die z. B. in der Leber, läßt sich aber nicht im entferntesten mit derjenigen in der Niere vergleichen. Das erscheint auffällig, weil die anatomischen Befunde auf das Pankreas als die Ursache der Störung des Zuckerstoffwechsels hinweisen. Weitgehende Schlüsse lassen sich jedoch aus diesem einen Versuch nicht ziehen. Jedenfalls geht daraus die große Affinität des Farbstoffs zu der Niere hervor, wodurch die Schädigung dieses Organs verständlich erscheint.

Schließlich wurde die Xanthopterinausscheidung im Harn nach intravenöser Injektion beim Kaninchen untersucht. Die Tabellen 10 und 11 enthalten die gefundenen Werte. Zur Untersuchung wurde ein von Koschara zur Untersuchung des Menschenharns angegebenes Verfahren angewendet, das für menschliche Harne gute Resultate ergibt, d. h. zugesetztes Xanthopterin wurde quantitativ wiedergefunden, während die

Analyse des Kaninchenharns nur die Hälfte des zugesetzten Farbstoffs wiederfinden ließ. Die Werte sind infolgedessen nur als Annäherungen zu betrachten.

Tabelle 10.

Kaninchen 12. Xanthopterinausscheidung nach Injektion von 24 mg zwischen 1. und 2. Tag. Untersuchung der Tagesmenge.

	Gesamtausscheidung in mg	Konzentration in mg/Liter
1. Tag	0,142	2,45
2. „	2,87	17,6
3. „	0,22	2,2
4. „	0,29	2,4

Tabelle 11.

Kaninchen 13. Xanthopterinausscheidung nach Injektion von 21,5 mg zwischen 1. und 2. Tag. Tagesmenge.

	Gesamtausscheidung in mg	Konzentration in mg/Liter
1. Tag	0,142	2,44
2. „	0,06	1,50
3. „	1,86	13,1
4. „	0,124	1,6

Aus den Tabellen geht hervor, daß nur ein Bruchteil der zugeführten Xanthopterinmenge wieder ausgeschieden wird, selbst wenn man die Einschränkung macht, daß nach der gewählten Methode nicht alles Xanthopterin wiedergefunden wird. Dabei gelangt sicherlich der weitaus größte Teil in die Niere.

Wenn man dazu noch die Tatsache nimmt, daß eine tägliche Dosis von 5 mg/kg beim Kaninchen nicht kumuliert, also keine Anhäufung im Organismus stattfindet, so ergibt sich, daß parenteral zugeführtes Xanthopterin zum größten Teil vom Organismus zerstört wird. Das ist bemerkenswert, weil es sich beim Xanthopterin doch um ein physiologisches Ausscheidungsprodukt handelt.

C. Versuchsteil.

a) Blutuntersuchung.

Der Rest-Stickstoff wurde nach Kjeldahl in $^1/_2$ ccm Serum bestimmt.

Blutzucker nach Hagedorn-Jensen in 0,1 ccm Blut.

Blutzucker nach Fujita und Iwatake in 1 ccm Blut.

Enteiweißung mit $Cd(OH_2)$ siehe K. Hinsberg u. K. Lang: Medizinische Chemie **1938**, S. 168.

Kreatinin und Gesamtkreatinin nach der Stupho-Methode in 5 ccm Oxalblut. Nach Enteiweißung nach Folin-Wu wird die Farbreaktion mit Pikrinsäure benutzt. Gesamtkreatinin nach 24stündiger Hydrolyse bei 60° mit Salzsäure.

b) Harnuntersuchung.

Eiweiß mit Sulfosalizylsäure, Zucker mit dem Fehlingschen Reagens.

c) Untersuchung der Organe auf Xanthopterin.

Etwa 10 g Organ, bei kleineren Organen auch weniger, wurden genau ausgewogen in frischem Zustand gründlich mit der 10fachen Menge Sand verrieben, bis ein gleichförmiger Brei entstanden war. Das dauert bei bindegewebshaltigen Organen einige Zeit. Der entstandene Brei wurde mit je nach der Menge 50—100 ccm 10%igen Pyridinlösung 15 Minuten gekocht. Nach dem Erkalten wurde in einen Cellophanschlauch abgegossen, der Rückstand noch zweimal mit kleinen Mengen Pyridinlösung nachbehandelt und diese Mengen ebenfalls in den Schlauch gegeben. Der Schlauch kam für 48 Stunden in einen Meßzylinder mit dest. Wasser. Das erhaltene Dialysat muß entweder, wenn nur wenig Xanthopterin vorliegt, im Vakuum stark eingeengt werden, oder es muß auch noch verdünnt werden. 5 ccm des eingeengten Dialysats wurden mit 5 ccm n/1-Sodalösung verdünnt, so daß die Lösung nunmehr n/2 ist. Diese Lösung wurde nach Bedarf mit n/2-Sodalösung weiterverdünnt. Die Fluoreszenz dieser Lösung wurde am Fluoreszenzphotometer ausgemessen, d. h. mit der Fluoreszenz eines Uranglases verglichen. Lichtquelle ist eine Ultraviolettlampe. Geeicht wird mit einer bekannten Lösung von Xanthopterin. Die Verdünnung der zu untersuchenden Lösung wird so gewählt, daß die Ablesungen zwischen 5 und 15 liegen. Bei höheren Ablesungen besteht keine Proportionalität mehr zwischen Xanthopterinmenge und Zahlenwert, niedrigere werden ungenau. Die Berechnung ist dann leicht. Das ganze Ergebnis wird noch mit 2 multipliziert, da nur die Hälfte des Xanthopterins aus den Schläuchen herausdialysiert.

d) Analyse von Harn auf Xanthopterin.

Die Tagesmenge Urin, die durch perorale Gabe von 50 ccm Wasser absichtlich hochgehalten wurde, wird in Stoffwechselkäfigen gesammelt. Etwa 50 ccm davon werden mit 0,5 g Kohle (Carboraffin c) kurz verrührt und abgenutscht. Filter samt Kohle wird mit 50 ccm n/50-Natronlauge kurz gekocht und noch heiß filtriert. Dann wird mit 20 ccm heißer Natronlauge nachgewaschen. 2 ccm des Filtrats werden mit 8 ccm n/2-Natronlauge versetzt und ausgemessen.

Zusammenfassung.

1. Die Insektenfarbstoffe Xanthopterin und Leukopterin zeigten bei Warmblütern bei Verabreichung in den Magen auch in großen Dosen und bei chronischer Zufuhr keine faßbaren pharmakologischen oder toxikologischen Wirkungen. Vermutlich beruht dies auf Unlöslichkeit und dadurch bedingter Unresorbierbarkeit.

2. Intravenöse Gaben des in Sodalösung gelösten Xanthopterins führen bei Mäusen, Kaninchen und Katzen zu einem charakteristischen, in erster Linie durch Niereninsuffizienz gekennzeichneten Vergiftungsbild, das in seiner Stärke streng nach der Dosis abgestuft ist. Diese Vergiftung führt zum Tode, wenn die einmalige Dosis bei Mäusen 50 mg/kg, bei Kaninchen 30 mg/kg und bei Katzen 7,5 mg/kg beträgt. Die blutchemischen und histologischen Folgen dieser Vergiftung werden beschrieben.

3. Neben der Wirkung auf die Niere kommt es dabei zu einer durch Hyperglykämie gekennzeichneten Störung im Zuckerhaushalt, die durch histologisch gefundene Pankreasnekrosen gedeutet wird. Glykosurie fehlt dabei, vermutlich infolge der Niereninsuffizienz.

4. Das intravenös zugeführte Xanthopterin wird in verschiedenen Organen, in der Hauptmenge aber in der Niere gespeichert. Die Ausscheidung im Harn beträgt zwar ein Vielfaches der Norm, aber nur einen geringfügigen Bruchteil der verabreichten Menge. Im Verlauf weniger Tage wird der größte Teil des Xanthopterins im Organismus in bisher unbekannter Weise zerstört.

5. Bei Kaninchen führten tägliche intravenöse Xanthopteringaben zu kumulativer Vergiftung, wenn die Einzeldosen $^1/_3$ der tödlichen Dosis betrugen, nicht aber, wenn sie $^1/_6$ betrugen. In diesem Falle trat vielmehr eine Gewöhnung ein in dem Sinne, daß nach längerer Zeit sogar eine größere als die tödliche Dosis nicht mehr zu tödlicher Vergiftung führte.

Die vorstehende Arbeit wurde im pharmakologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft in Wuppertal-Elberfeld unter Leitung von Herrn Dr. Hecht ausgeführt. Das erforderliche Xanthopterin wurde mir von Herrn Dr. Koschara zur Verfügung gestellt. Beiden Herren bin ich für ihre Unterstützung und Beratung bei meinen Untersuchungen sehr zu Dank verpflichtet.

Literatur.

1) Becker, E.: Z. Morph. u. Ökol. Tiere **32**, 672 (1937). — 2) Koschara, W.: Hoppe-Seylers Z. **240**, 127 (1936). — 3) Purrmann, R.: Liebigs Ann. **544**, 182 (1940). — 4) Koschara, W.: Hoppe-Seylers Z. **250**, 161 (1927). — 5) Koschara, W.: Ebenda **259**, 97 (1939). — 6) Koschara, W., u. A. Hrubesch: Ebenda **258**, 39 (1939). — 7) Tschesche, R., u. H. J. Wolf: Ebenda **244**, I (1936). — 8) Koschara, W.: Ebenda **262**, 158 (1939). — 9) Pfeiffer, H.: Abderhaldens Handb. IV, 7 B, S. 1083. — 10) Becher u. Hülse: Lehrbuch der spez. pathol. Physiol., Jena 1940, S. 199.

Aus der Pharmakologischen Abteilung der Knoll A.-G., Ludwigshafen/Rhein.

Beitrag zur statistischen Beurteilung biologischer Wirkungen.

Von

W. Biehler und H. Wollschitt.

(Mit 14 Textabbildungen [26 Einzelbildern].)

(Eingegangen am 20. Juli 1941.)

Mit Recht gehen seit Jahren die Bestrebungen einsichtiger Naturwissenschaftler dahin, eine sachgemäße statistische Beurteilung biologischer Beobachtungen zum Allgemeingut zu machen; es sei hier nur an die Arbeiten von Pütter, Magnus, Trevan, Behrens, Kärber, Burn, Prigge, Schäfer, v. Schelling, v. Waerden usw. erinnert. Das Verdienst dieser Bemühungen ist es, auf die Tatsache der Tiervariabilität energisch hingewiesen zu haben. Zu oft war vergessen oder zu gering eingeschätzt worden, daß ebenso, wie die Individuen einer Tiergattung in ihrer Größe wechseln, im allgemeinen aber doch in dieser Beziehung eine Gesetzmäßigkeit aufweisen (Queteletsche Kurve), auch ihre Ansprechbarkeit auf Pharmaka wechselt. Bei diesen Arbeiten wird aber eine einigermaßen gleichmäßige Verteilung dieser Streuung um einen Mittelwert zum Teil stillschweigend angenommen, zum Teil ausdrücklich vorausgesetzt, besonders wenn es sich um die Frage der mathematischen Behandlung der Beobachtungen und der dabei anzuwendenden statistischen Formel dreht. Zwar hat man Abweichungen schon beobachtet und Langecker[1] hat ein derartiges Material mit offenbar ungleichmäßiger Streuung verworfen; von Kärber[2] wurde jedoch eine Formel entwickelt, welche auch in solchen Fällen die Gewinnung eines Mittelwertes ermöglicht. Bei ihrer Anwendung wird jedoch u. E. oft zu wenig berücksichtigt, daß es hinsichtlich der Empfindlichkeit für Arzneimittel ebenso verschiedene „Rassen" im Bereiche einer Tiergattung gibt, wie sie uns hinsichtlich Haarfarbe, Gewicht usw. geläufig sind. Gerade die Kärbersche Formel kann also bei mechanischer Anwendung leicht zu biologisch unzutreffenden Urteilen verführen.

Nachfolgend seien Erfahrungen wiedergegeben, welche uns schließlich zu dieser Auffassung brachten. Die experimentellen Arbeiten wurden zwar schon vor Jahren durchgeführt; die Bewertung der Ergebnisse gab aber immer erneuten Stoff zur Diskussion. Die folgende Darstellung ist nicht streng historisch, sondern nimmt der Kürze halber vielfach neuere Erkenntnisse voraus.

---

[1] Langecker, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 257—277, 1928. — [2] Kärber, G.: Ebenda **162**, 480—483 (1931).

I.

Die Aufgabe: Dilaudid (Dihydromorphinon) wurde 1926 dem Handel übergeben. Zahlreiche Nachprüfungen und pharmakologische Arbeiten während des inzwischen verflossenen Zeitraums haben erwiesen, daß es sich hier um ein Mittel von mindestens fünfmal stärkerer Wirkung als Morphin handelt, das im Bereiche niedriger Dosierung (2—4 mg) am Menschen einen meist ausreichenden analgetischen Effekt bei fehlender sedativer oder euphorischer Komponente aufweist.

Bei den ersten Darstellungsversuchen im großen, noch vor Einführung in den Handel, wurde darauf ausgegangen, durch Änderungen der chemischen und physikalischen Technik der Gewinnung (Kristallisation!) Präparate zu erhalten, die bei einwandfrei stimmender Elementaranalyse und Schmelzpunkt ein stets besseres Aussehen böten. So kam man zu Kristallisationen von schneeiger Weiße, welche aber nun merkwürdigerweise bei der Erprobung am Menschen augenscheinlich häufiger zu Klagen über Nebenwirkungen wie Erbrechen Anlaß gaben als andere, weniger ansehnliche Pulverpartien, die nur in Ausnahmefällen zu Beanstandungen führten. Hier stand also das Urteil des Arztes in einem zunächst unerwarteten und unerklärlichen Widerspruch zum Urteil des Chemikers und Kaufmannes.

Es mag hier übergangen werden, welche Versuche unternommen wurden, um trotz scheinbarer chemischer Identität doch Unterschiede zwischen den verschiedenen Proben zu finden; es zeigte sich schließlich, daß das Ausmaß der spezifischen Drehung hier den wertvollsten Anhalt gab. Aber immer noch war das Gewicht des einheitlichen chemischen Befundes so groß, daß Zweifel auftauchten, ob die Beobachtungen des Arztes nicht zufälliger Natur seien, bedingt durch die außerordentliche Variabilität sowohl seines „Testmaterials" als auch der äußeren Bedingungen (Krankheit usw.). Dem Biologen wurde somit die Aufgabe zuteil, hier eine maßgebende Entscheidung zu fällen.

Zur Durchführung unserer Versuche dienten zwei ausgesuchte Dilaudid-Proben A und B, welche sich weder durch Schmelzpunkt noch durch Elementaranalyse, sondern nur durch das Ausmaß ihrer spezifischen Drehung unterschieden.

II.

Erster Lösungsversuch.

Zunächst wurde an einem Kollektiv von 30 Tauben der Versuch gemacht, einen Unterschied in der Schwelle der Kropfentleerung (als Analogon zum Brechakt) für beide Substanzen zu finden, jedoch ohne Erfolg. An Hunden dagegen ließ sich eine Dosis finden, welche bei einem Präparat Erbrechen hervorrief, beim anderen nicht. Das Ergebnis war:

	Substanz A	Substanz B
8 Hunde	+	—
1 Hund	—	+
1 Hund	—	—

Der Umstand, daß der Taubenbrechversuch schließlich völlig negativ verlaufen war, obwohl der erste Eindruck ebenfalls in der Richtung des

vorstehend mitgeteilten Ergebnisses gegangen war, zwang uns, den Ausgang des Hundeversuchs einer über das übliche Maß hinausgehenden Kritik zu unterziehen. Selbstverständlich waren schon bei der Durchführung der Versuche selbst gewisse Vorsichtsmaßregeln zu beachten. So konnte z. B. eine Gewöhnung an die Versuchssubstanz eintreten, besonders da es in einer Reihe von Fällen nicht auf Anhieb gelang, die richtige Dosis zu finden, wodurch dann die Voraussetzung: „gleicher Gabe entspricht gleiche Wirkung" hinfällig geworden wäre. Dem wurde durch Einschieben von Pausen und zweckentsprechenden Wechsel der Dosen vorgebeugt. Es konnte aber auch eine in anderer Richtung sich auswirkende Gewöhnung (an den Versuchsablauf) eintreten: der Hund „lernt" auf die Spritze hin mit Erbrechen zu antworten (oder er tut es aus Angst vor den Folgen der Spritze) — es wurden also gegebenenfalls Kochsalzspritzen eingeschoben. Trotzdem ist jedoch immer noch die Frage aufzuwerfen, ob bei einer so kleinen Versuchstierzahl dem oben genannten Ergebnis schon Beweiskraft zukommt. Dieser Zweifel wird dann besonders berechtigt erscheinen, wenn man überlegt, daß bei einer rein zufälligen Verteilung des Versuchsausfalles bereits je fünf positive Ergebnisse nach den Regeln der Wahrscheinlichkeitslehre zu erwarten gewesen wären. Wir waren uns also schon von Anfang an darüber im klaren, daß die Sicherheit, mit der ein Wirkungsunterschied nachgewiesen sein konnte, wohl nur sehr knapp war. Wie knapp, erhellte jedoch erst, als wir v. Schellings[3] „exakte Behandlung des Zusammenhanges zwischen biologischen Merkmalsreihen" auf unser Problem angewandt sahen. Man kann unsere Ergebnisse folgendermaßen in eine 2×2-Tafel anordnen:

	+	−	
A.....	8	2	$a_1 = 10$
B.....	1	9	$a_2 = 10$
	$A_1 = 9$	$A_2 = 11$	$N = 20$
Anteil positiver Fälle bei Präparat A....			$p_1 = 0{,}8$
„ „ „ „ „ B....			$p_2 = 0{,}1$
			$d = p_1 - p_2 = 0{,}7$

Der strenge mittlere Fehler von d berechnet sich nach der Formel:

$$\sigma_d^2 = \frac{1}{N\text{-}1} \cdot \frac{A_1 A_2}{a_1 \cdot a_2} = \frac{1 \cdot 9 \cdot 11}{19 \cdot 10 \cdot 10} = \frac{3^2 \cdot 11}{10^2 \cdot 19}; \qquad \sigma_d = 0{,}3 \cdot \sqrt{\frac{11}{19}} = 0{,}228.$$

Es ist also $\sigma_d = 0{,}228$. Teilen wir die beobachtete Differenz $d = 0{,}700$ durch $\sigma_d = 0{,}228$, so erhalten wir 3,07, also eine Kleinigkeit über 3. Danach ist es unwahrscheinlich, daß die Präparate in Wirklichkeit gleiche Folgen haben und der Unterschied nur durch den Zufall vorgetäuscht worden

[3] v. Schelling: Arbeiten aus dem staatl. Inst. f. experimentelle Therapie u. d. Forschungsinst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 39, S. 35—71 (1940). — Wir danken Herrn Dr. v. Schelling für frdl. Beratung.

ist. Die statistische Sicherung des Unterschiedes zwischen A und B ist also ganz knapp gelungen.

Um größere Gewißheit zu erlangen, hatten wir ursprünglich als praktische Kontrolle den bekannten Urnenversuch der Wahrscheinlichkeitsrechnung herangezogen*. In eine Urne wurden entsprechend den zwei Möglichkeiten (Erbrechen oder Nichterbrechen) je zehn Kugeln grüner bzw. blauer Farbe eingelegt. Zwar waren die Kugeln jeder Farbe untereinander an Größe etwas verschieden, das Gesamtgewicht der grünen war aber gleich dem der blauen. Eine Zahl von 32 Versuchspersonen hatte den Auftrag, wahllos aus der Urne jeweils zehn Kugeln zu entnehmen. Das Ergebnis (einzelne Versuchspersonen zogen mehrfach) war:

	Grün	Blau
4 mal	4	6
19 mal	5	5
5 mal	6	4
12 mal	7	3

Auch bei einer so kleinen Zahl von jeweils 10 Entnahmen = Versuchen ist also das Verhältnis nie über 7 : 3 hinausgegangen; es schien uns also danach unwahrscheinlich zu sein, daß das Ergebnis 8 : 2 eine zufällige Häufung bei zu kleinem Zahlenmaterial darstellen könnte. Darüber hinaus ergab sich aber noch folgendes: Die deutliche Bevorzugung der grünen Kugeln ließ die Vermutung aufkommen, daß hier doch ein systematischer Qualitätsunterschied zugunsten der grünen Kugeln vorliegen müsse, obwohl eine eingehende Besichtigung und Befühlung derselben sichere Unterschiede nicht erkennen ließ. Auch die Behauptung einzelner Versuchspersonen, sie könnten zwischen den Kugeln eine willkürliche Auswahl zugunsten der einen Sorte treffen, erwies sich in daraufhin angestellten Versuchen als hinfällig. Trotzdem lag diesen Angaben eine richtige Wahrnehmung zugrunde. Als nämlich das Gesamtvolumen der grünen bzw. blauen Kugeln bestimmt wurde, stellte sich heraus, daß im Mittel das einer blauen Kugel 0,95 ccm, das einer grünen dagegen 1,05 ccm war. Es haben also die grünen Kugeln ein etwas geringeres spezifisches Gewicht als die blauen und das mag ihre Lage in der Urne oder das Gefühl der Versuchspersonen irgendwie beeinflußt und so eine Begünstigung der grünen Kugeln bewirkt haben. — Dieser Befund erschien uns jedoch für unsere Betrachtung sehr beruhigend. Die Abweichung von dem nach Wahrscheinlichkeitsrechnung zu erwartenden Verhältnisse von 5 : 5 gab Veranlassung, nach einem systematischen Einfluß zu suchen, der dann auch in dem abweichenden spezifischen Gewicht gefunden wurde. Übertragen glaubten wir uns berechtigt, auch bei dem Ergebnis 8 : 2 einen systematischen Einfluß mit Sicherheit annehmen zu dürfen, der in diesem Falle eben in der stärkeren spezifischen Nebenwirkung der Substanzprobe A zu suchen wäre.

III.

Zweiter Versuch.

Natürlich konnten wir uns mit diesem Ergebnis nicht begnügen. Es mußte darüber hinaus nach weiteren Unterschieden biologischer Natur gesucht werden. Dazu wurde als charakteristische Dilauditwirkung an

* Herr v. Schelling überzeugte uns, daß unsere Versuchsanordnung den hier in Frage kommenden Zufallsmechanismus nicht nachahmt. Trotzdem wollen wir den Versuch kurz schildern, da er u. E. einiges sinnesphysiologische Interesse bietet.

einem mit besonderer Sorgfalt ausgewähltem Tiermaterial das vom Morphin bekannte Straubsche Mäuseschwanzphänomen herangezogen und der Schwellenwert bestimmt, mit dem es gerade bei 50% der Versuchstiere auslösbar war. Die Versuche wurden nach mißglückten Versuchen der Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis, über die später im Zusammenhang berichtet werden wird, durchgeführt an einem Kollektiv von 80 Tieren, die von einem Züchter stammten, und einem weiteren Kollektiv von 60 Tieren, das als Sonderzucht aus einem einzigen Mäusepaar durch Inzucht gewonnen worden war. Das Ergebnis war, nachdem in Vorversuchen für jedes Präparat Dosen ausfindig gemacht worden waren, die je etwas unterhalb bzw. oberhalb der gesuchten Schwelle lagen:

	Probe B				Probe A			
	Zahl der Tiere	Dosis γ/kg	Reaktion ø	Reaktion +	Zahl der Tiere	Dosis γ/kg	Reaktion ø	Reaktion +
Misch-tiere	40	0,5	57 %	43 %	40	2,5	55 %	45 %
	40	1,0	30 %	70 %	40	5,0	37 %	63 %
Sonder-zucht	30	0,5	67 %	33 %	30	2,5	56 %	44 %
	30	1,0	40 %	60 %	30	5,0	37 %	64 %

Dieses Resultat läßt den Verdacht einer Asymmetrie in der Streuung des Tiermaterials als unwahrscheinlich ablehnen. Den Wert für 50%ige Wirksamkeit haben wir zunächst durch direkte graphische Interpolation gewonnen in der Annahme, es sei erlaubt, die erhaltenen Werte durch Geraden zu verbinden, eine Annahme, die nach dem allgemeinen Verlauf der Trevanschen Sigmoide in der Gegend von 50% zulässig sein dürfte. Auf diese Weise findet man für das Präparat B den Wert von 0,73 γ/kg, für das Präparat A den Wert von 3,22 γ/kg. Nach späteren Äußerungen der Literatur erschien es fraglich, ob unsere Meßpunkte nicht richtiger als Punkte von Dosiswirkungskurven aufzufassen seien, die dann mit größerer Berechtigung durch Einzeichnen in logarithmisches Wahrscheinlichkeitspapier in Geraden überzuführen wären. Es zeigt sich jedoch, daß man mit diesem Verfahren praktisch die gleichen Werte erhält:

$$\text{Präparat B} = 0{,}75\,\gamma/\text{kg},$$
$$\text{Präparat A} = 3{,}30\,\gamma/\text{kg}.$$

Die Abweichungen in der zweiten Stelle hinter dem Komma liegen natürlich völlig innerhalb der Fehlergrenze und sind zu vernachlässigen. Dagegen ist die zwischen beiden Präparaten beobachtete Wirkungsdifferenz als wesentlich zu betrachten. Für jedes Präparat läßt sich ein mittlerer Fehler von je 0,095 ableiten; daraus folgt eine signifikante Differenz k von 18,7. Im allgemeinen wird eine Differenz schon als sicher signifikant angesehen, wenn k gleich 5 ist.

Auch aus diesen Untersuchungen ging also ein einwandfreier biologischer Unterschied hervor.

IV.

Dritter Versuch.

Wir hatten uns schon vorher einem befriedigenden Abschluß unserer Arbeit nahe geglaubt, als wir an die Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis herangingen. An Gruppen von je 6 Mäusen stellten wir, von 30 mg/kg beginnend in Dosissprüngen von je 10 oder 20 mg/kg bis zu 120 mg/kg hinauf, jeweils die Anzahl der getöteten Tiere fest. Zu unserem nicht geringen Ärger fanden wir jedoch für jedes der Präparate, auch bei öfterer Wiederholung des Versuchs, immer wieder, daß mit steigender Dosierung zunächst die Prozentzahl der getöteten Tiere anstieg, dann aber bei einer

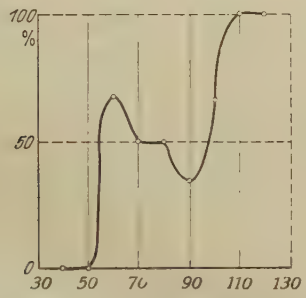


Abb. 1. Bei mittleren Dosen abfallende Wirkungskurve.

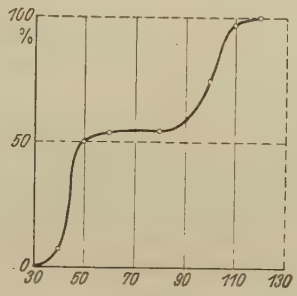


Abb. 2. Nach Kurvenausgleich bei mittleren Dosen nur unmerklicher Wirkungsanstieg.

höheren Dosierung wieder zurückging, um dann bei einer weiteren Dosissteigerung wieder sprunghaft anzusteigen und dem Wert von 100% zuzustreben, wie dies Abb. 1 an einem Beispiel zeigt. Erst als wir aus 6 Versuchen das Mittel bildeten, kam eine „vernünftige" Kurve zur Darstellung (Abb. 2), welche jedoch gerade in der Gegend von 50% statt steilsten Anstieges fast parallel zur Abszisse verlief. Damit ist jedoch gerade das Moment, welches zur Empfehlung der D. l. m. 50% als Meßpunkt führte, weggefallen. Unsere gemittelte Kurve machte den Eindruck, als seien 2 Trevansche S-Kurven hintereinandergeschaltet, deren erste von 0—50% für die niederen Dosen, deren zweite von 50—100% für die höheren Dosen verliefe. Da wir uns für unseren speziellen Zweck auch mit den inzwischen bereits gesicherten Ergebnissen (Abschnitt II und III) begnügen konnten, setzten wir unsere Versuche in dieser Richtung nicht fort. Dagegen beschäftigte uns die Frage, wie denn das Zustandekommen des rückläufigen bzw. nur langsam ansteigenden Teiles der Trevanschen Kurve zu erklären sei.

V.

Deutung der doppeltgeschwungenen Kurve der Dosis letalis.

In der bekannten Arbeit von Behrens[4] zur Auswertung der Digitalisblätter im Froschversuch findet sich auf S. 250 ein Tabellenbeispiel, welches bei zeichnerischer Wiedergabe eine Kurve für die Dosis letalis ergeben würde, die eine gewisse Ähnlichkeit mit unserer zu untersuchenden Kurve hat. Auch bei ihr steigt die Wirkung nicht gleichmäßig mit der Dosis an, sondern hat einen kurzen rückläufigen Kurvenzug. Das Bemerkenswerte an dieser Kurve ist jedoch, daß sie nicht an lebenden Objekten gewonnen wurde, sondern an einem Kollektiv von „Zettelfröschen", die mit dem Losrad gemischt worden waren. Dabei war die errechnete „Giftempfindlichkeit" symmetrisch um einen Mittelwert gleichmäßig verteilt unter Zugrundelegung der Gaußschen Fehlerverteilungsformel*. Hieraus könnte der Schluß gezogen werden, daß derartige Abweichungen rein durch Zufall bedingt seien. Die Behrensschen Versuche geben jedoch auch einen Anhaltspunkt, wie häufig solche zufälligen Abweichungen zu erwarten sind: Unter 100 Ziehungen lieferten 26 „Versuche" bei Verwendung von Sechsergruppen diese Kurven. Es wäre also bei jedem 4. Versuch, eine Abweichung zu erwarten. In unserem Falle hatten wir jedoch bei 6 Versuchen sechsmal eine teilweise rückläufige Kurve gewonnen. Dies wies schon darauf hin, daß hier eine systematische Abweichung vorliegt und die Erklärung unserer Ergebnisse als „zufallsbedingt" unzureichend ist.

Wir dachten nun zunächst daran, der merkwürdige Kurvenverlauf sei durch die Interferenz zweier teils gegensätzlich, teils gleichförmig verlaufender toxischer Teilwirkungen zu erklären. Man könnte z. B. annehmen, die lähmende Wirkung auf das Atemzentrum setze schon bei niederen Dosen ein (etwa bei 30 mg/kg) und erreiche sehr rasch ein Maximum (etwa bei 60—70 mg/kg); demgegenüber soll die an der weißen Maus sehr deutlich ausgeprägte zentral erregende Wirkung erst bei mittleren Dosen (etwa 40—50 mg/kg) beginnen und stetig ansteigen. Dann wäre eine Zone denkbar, etwa 60 mg/kg, in der die Atemlähmung schon genügt, einen großen Teil der Tiere zu töten, während die zentral erregende sich ihr gegenüber noch nicht geltend machen kann; es wäre weiterhin denkbar, daß bei einer höheren Dosierung nun die stärkere zentral erregende Wirkung in vielen Fällen die tödliche Atemlähmung aufzuheben in der Lage ist, so daß nun weniger Tiere sterben als mit der geringeren Dosis. Bei noch höheren Gaben aber führt diese zentrale Erregung sekundär zu einer Erschöpfung, die nun wieder der Atemlähmung synergistisch wirkt und damit in allen Fällen den Tod des Versuchstieres nach sich zieht. Doch schien uns eine solche Erklärungsmöglichkeit nicht nur gekünstelt, sondern auch den tatsächlichen Verhältnissen kaum entsprechend zu sein.

Davon abgesehen kommt aber auch bei dieser Erwägung ein Faktor ins Spiel, der die ganze Beobachtung viel einfacher zu erklären erlaubt: der Faktor der individuellen Empfindlichkeit. Überlegt man, daß die

[4] Behrens, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **140**, 237—256 (1929).

* Persönliche Mitteilung von Herrn Prof. Behrens, für die wir ihm auch an dieser Stelle bestens danken.

Trevansche Kurve als Summenkurve das Integral der das entsprechende Kollektiv kennzeichnenden Verteilungskurve darstellt, so ergibt sich die einfache Folgerung, nun unsere primär gegebene anormale doppelt geschwungene Trevansche Kurve zu differentiieren und zu sehen, welches Aussehen die dann gewonnene Verteilungskurve des Kollektivs hat. Zunächst sieht man aus dem Kurvenverlauf (Abb. 3) ohne weiteres, daß den Wendepunkten 1 und 3 in der abgeleiteten Kurve je ein Maximum, dem Wendepunkt 2 ein Minimum entsprechen muß. Die graphische Differentiierung ergibt auch tatsächlich einen zweigipfeligen Kurvenzug, dessen biologische Ausdeutung uns folgern läßt, bei unserem Tiermaterial handle es sich um ein Mischkollektiv, das aus zwei scharf getrennten Teilkollektiven zusammengesetzt ist, nämlich einem Teilkollektiv von Mäusen, die sehr scharf bei etwa 45—50 mg/kg eingehen, und einem anderen von unempfindlicheren Tieren, bei denen die mittlere tödliche Dosis bei etwa 100 mg/kg liegt. Genauere Daten für die einzelnen Teilkollektive glauben wir aus unseren Unterlagen jedoch nicht ableiten zu dürfen.

Abb. 3. Die ursprüngliche Kurve mit den Wendepunkten 1, 2 und 3: ausgezogen. Durch graphische Differentiierung die abgeleitete 2 gipfelige Kurve des Mischkollektivs: gestrichelt.

VI.

Allgemeine Besprechung des Zusammenhangs der Teilkollektive mit ihrer Integrationskurve.

Wie man sieht, liegen die beiden Gipfelpunkte der bei der Aufspaltung des Mischkollektivs gewonnenen Teilkollektive ziemlich weit auseinander. Wir haben nicht versäumt, zur Prüfung unseres Befundes auch den umgekehrten Weg zu gehen und zu versuchen, ob sich aus gemischten Teilkollektiven eine entsprechende Integrationskurve gewinnen läßt. Dabei haben wir (um einfachere Verhältnisse zu schaffen) ein symmetrisch gebautes Kollektiv angenommen und dieses auf der Abszisse so verschoben. daß die Mittelwerte um das 2-, 3- bzw. 4fache des mittleren Fehlers μ voneinander abstanden. Abb. 4—6. Unter Zugrundelegung der uns geläufigen allgemeinen Zusammenhänge zwischen der Kurve eines Kollektives und der zugehörigen Summenkurve der Prozentzahlen der toten Tiere wurde die Trevansche Sigmoide auf elementare Weise rechnerisch abgeleitet. Die gewonnenen Kurven sollten uns gleichzeitig einen Anhaltspunkt geben, von welchem Abstand der Mittelwerte an eine derartige Abweichung von der einfachen zur doppelt geschwungenen Sigmoide zu finden ist, daß man erwarten darf, sie im Tierversuch deutlich ausgeprägt zu sehen. Es ist

dabei daran zu denken, daß eine solche Abweichung, ebensogut wie sie durch Zufälligkeiten vorgetäuscht, auch durch Zufälligkeiten verwischt werden kann. Dem Anschein nach dürfte die Abweichung bei 4 μ genügend ausgeprägt sein.

Um uns den Einfluß des Zufalls besser anschaulich zu machen, führten wir, dem Beispiele von Behrens folgend, ein Lotteriespiel durch. Wir gaben 800 Lose (Nummer 1—800 ohne Nieten) in eine Trommel, wie sie zum Überziehen von Arzneimitteln mit einer Zuckerschicht gebraucht wird. Bei einem größten Durchmesser von 38 cm und einer Neigung von etwa 30° gegen die Horizontale machte sie in der Minute 10 Umdrehungen. Nach

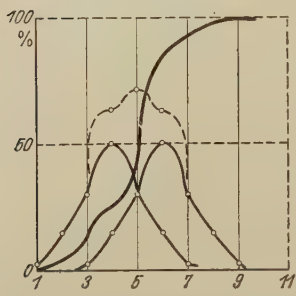


Abb. 4. Mischkollektiv. Abstand der Mittelwerte 2 μ. Geringgradige Deformation der Sigmoide im ansteigenden Schenkel.

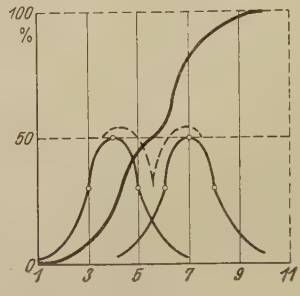


Abb. 5. Mischkollektiv. Abstand der Mittelwerte 3 μ. Mäßige Abflachung der Sigmoide in der 50%-Gegend.

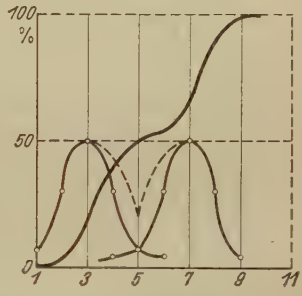


Abb. 6. Mischkollektiv. Abstand der Mittelwerte 4 μ. Merkliche Abflachung der Sigmoide bei 50%.

einer Laufzeit von 2 Stunden wurden der rotierenden Trommel nacheinander 120 Lose entnommen, geöffnet und die Ziffernfolge in der Reihe der Entnahme aufgeschrieben. Die Lose wurden dann wieder gerollt, mit Ringen versehen und in die Trommel zurückgegeben. Nach einem weiteren Lauf von 4 Stunden wurden erneut 120 Lose entnommen und ihre Ziffernfolge schriftlich festgehalten. Dadurch, daß wir unseren 800 Losziffern verschiedene Bedeutung beilegten, konnten wir mit dieser einen Doppelziehung gleichzeitig eine ganze Anzahl von Möglichkeiten untersuchen.

Beispiel: Annahme eines einheitlichen Kollektives A folgenden Aufbaues:

	je 10	20	40	60	40	20	10 Tiere
einer Giftempfindlichkeit							
	von 35	45	55	65	75	85	95 mg/kg

Es konnten dann z. B. der Giftempfindlichkeit 35 mg/kg (als tödliche Dosis) die Losnummern: 1—40; oder: 1—20 und 401—420; oder: 1—10, 201—210, 401—410 und 601—610; oder: 1, 21, 41, 61 usw. bis 781 oder absteigend 761—800 usw. zugeordnet werden.

Unter Zugrundelegung dieser „Urverteilungen" wurde dann festgestellt, welche Zahl von Tieren in den jeweils aufeinanderfolgenden 6er

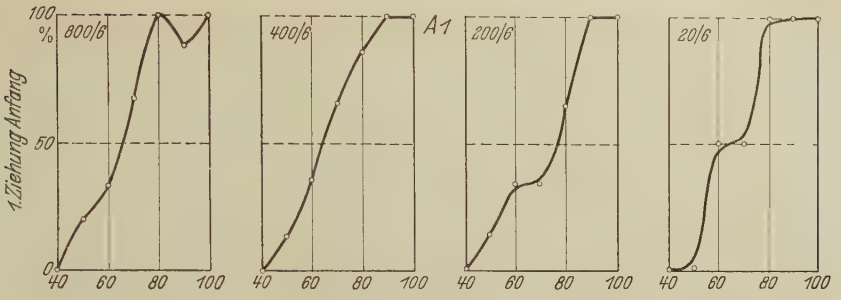


Abb. 7a. Abb. 7b. Abb. 7c. Abb. 7d.

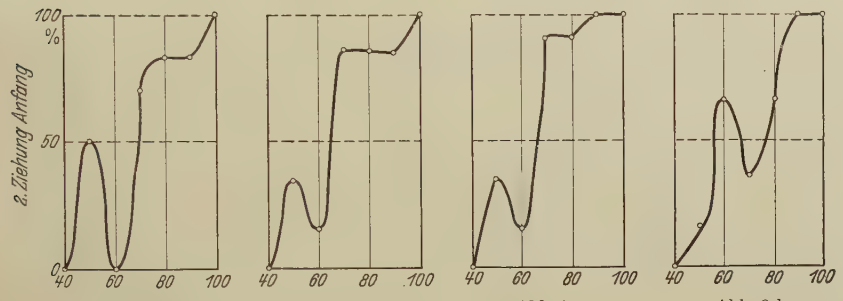


Abb. 8a. Abb. 8b. Abb. 8c. Abb. 8d.

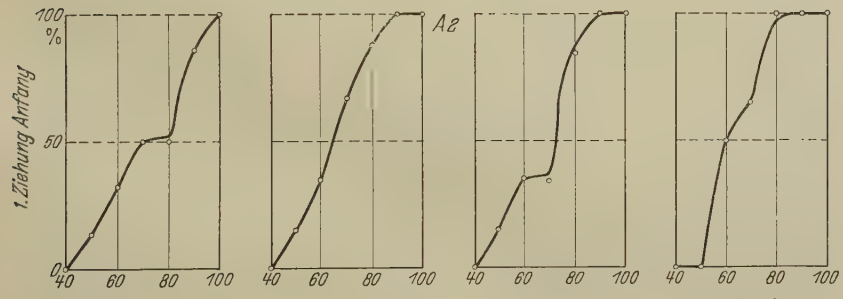


Abb. 9a. Abb. 9b. Abb. 9c. Abb. 9d.

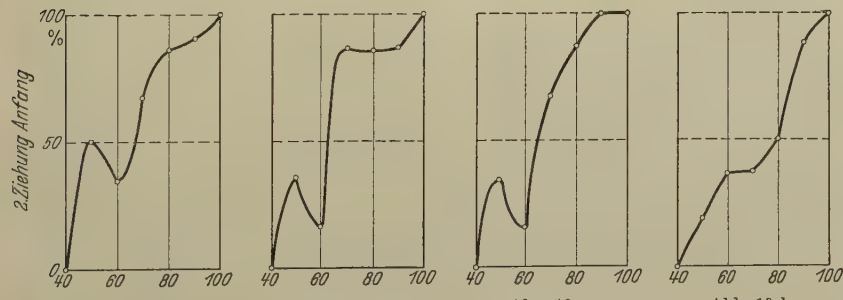


Abb. 10a. Abb. 10b. Abb. 10c. Abb. 10d.

(oder 10er usw.) Gruppen der ersten oder zweiten Ziehung bei Injektion einer bestimmten Dosis des Mittels gestorben wäre. Das Ergebnis war in mehrfacher Hinsicht interessant.

So fanden wir bei Annahme einer Verschiebung des oben gekennzeichneten Kollektives (A 1) um das 1,5fache des Mittelwertes (Mischkollektiv A 2) die in Abb. 7 bis 10 wiedergegebenen Kurvenbilder.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der ersten Ziehung (Abb. 7a—7d bzw. 9a -9d) mit denen der zweiten (Abb. 8a—8d bzw. 10a—10d). so sieht man, daß regelmäßig bei der zweiten Ziehung Abweichungen vom „Normalverlauf" zu sehen sind. Durch die längerdauernde „Mischung" ist also allem Anschein nach tatsächlich eine Entmischung eingetreten. Offenbar waren die Losröllchen nicht gewichtsgleich und zeigten wohl auch kleine Abweichungen im äußeren Bau, welche ihren Einfluß bei dem langen Aufenthalt in der gleichmäßig rotierenden Trommel allmählich bemerkbar machten. Wir legten also weiterhin immer nur die Ergebnisse der ersten Ziehung unseren Studien zugrunde. Am besten entspricht

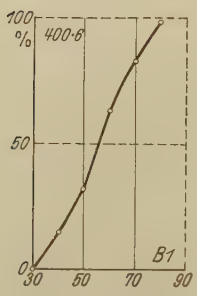


Abb. 11. Sigmoide eines einheitlichen Kollektives.

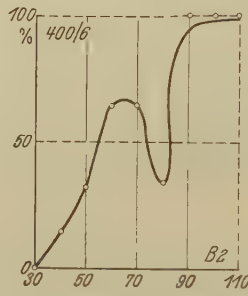


Abb. 12. Sigmoide eines Mischkollektivs (Abstand der Mittelwerte 2,2 μ). Bei Verwendung von 6er Gruppen.

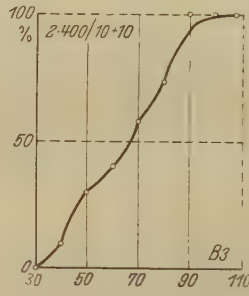


Abb. 13. Sigmoide des gleichen Mischkollektives (Abstand 2,2 μ) bei Verwendung von 20iger Gruppen.

hierbei die aus einer Urverteilung von zwei Gruppen zu 400 Tieren (35 mg/kg D. l. = Tier 1—20 und 401—420) dem zu erwartenden Ergebnis. Vergleicht man aber nun die entsprechenden Kurven Abb. 7b und 9b, so sieht man, daß bei den gewählten 6er Gruppen die Kurve Abb. 9b der des Mischkollektivs A_1 völlig entspricht. Dagegen macht sich bei einer Verschiebung von 2,2 μ, die wir mit einem anderen Kollektiv vornahmen (B_1 bzw. B_2), schon eine deutliche Abweichung geltend, die mehr oder minder bei jeder Gruppierung zu sehen war. Doch verschwanden diese Unterschiede bei Benutzung größerer (20er) Gruppen (Abb. 13). Dies entspricht der Laboratoriumsregel, daß die Wahrscheinlichkeit, Mischungsungleichmäßigkeiten eines Materials zu entdecken, bei Entnahme kleiner Substanzproben höher ist als bei Verwendung zu umfangreicher Proben, bei welchen sich nicht nur Inhomogenitäten wieder ausgleichen, sondern auch viel weniger ins Auge fallen. Wir betrachteten schließlich noch ein Mischkollektiv mit 6,5 μ-facher Verschiebung des Mittelwertes. Hier fanden wir bei jeder Gruppierung eine charakteristische doppeltgeschwungene Sigmoide.

Aus dem Ergebnis unserer Nachprüfung gewannen wir zusammenfassend den Eindruck, daß man regelmäßig eine doppeltgeschwungene Kurve erwarten darf, wenn die Mittelwerte der beiden Teilkollektive etwa um das 4—5fache des mittleren Fehlers voneinander verschieden sind. $K = 5$ wird aber allgemein als eine sicher signifikante Differenz angesehen. D. h. unsere durch den Augenschein gewonnene Anschauung entspricht durchaus dem allgemeinen Übereinkommen. Weiter sprechen diese Erfahrungen dafür, daß unsere graphische Differentiierung uns ein Ergebnis in der richtigen Richtung geliefert hat.

VII.

Allgemeine Bedeutung der doppeltgeschwungenen Sigmoide.

Derartige Aufspaltungen einer beobachteten Verteilung in zwei oder mehr „normale" Verteilungen sind auf anderem Gebiete in letzter Zeit sehr häufig von K. Daeves und seiner Schule[5] vorgenommen worden. Natürlich ist da in jedem Einzelfalle zu prüfen, ob diesen so erschlossenen Normalverteilungen auch tatsächlich eine sachliche Bedeutung zukommt. Der Beweis hierfür wird in unserem Falle noch besonders dadurch erschwert, daß auch reine Linien zweigipfelige Häufigkeitskurven von Maßzahlen eines Merkzeichens liefern können (vgl. z. B. Drion[6], l. c., Abb. 5b). Dennoch neigen wir zu der Annahme, daß es sich in unserem Falle um die Mischung zweier verschiedener reiner Linien der gemeinsamen Spezies „Maus" handeln müsse, die sich nun nicht durch eines der sonst in der Systematik als Unterschiedsmerkmal geläufigen, durch das Auge wahrnehmbaren Kennzeichen, wie Gestalt, Größe, Farbe usw., unterschieden, sondern durch das nur indirekt feststellbare der verschiedenen Giftempfindlichkeit. Kurz, wir glauben, daß hier zwei Jordanone vorlagen und sind der Auffassung, dies bis zu einem gewissen Grad durch den Züchtungsversuch wahrscheinlich gemacht zu haben.

Von den Tieren, die 100 mg/kg überlebt hatten, wurden 6 Paare ausgewählt und weitergezüchtet. Leider stand dieser Versuch unter einem Unstern; durch eine Reihe unglücklicher Zufälle konnte nur von 2 Paaren Nachkommenschaft erhalten werden, und zwar von einem Paar 9 Tiere der 1. Filialgeneration und von einem aus diesen Tieren gebildeten Paar 3 Tiere der 2. Generation. Von einem anderen Paar erhielten wir durch 4 Würfe und Paarung dieser Geschwister bis zur 3. Generation insgesamt 70 Tiere. Diese Nachkommen der giftunempfindlichen Tiere überlebten die einmalige Injektion der unteren Grenzdosis von 70 mg/kg zu 90 bzw. 100%.

---

[5] Daeves: Praktische Großzahlforschung. Berlin 1933; Beckel, A., u. K. Daewes: Stahl u. Eisen **54**, 1305—1309 (1934); Daeves u. Beckel: Die chemische Fabrik **14**, 131—143 (1941). — [6] Drion: Recueil des Travaux botaniques Neerlandais **33**, 77—132 (1936).

Die von uns beobachtete Erscheinung stellt nun unserer Erfahrung nach keineswegs einen Einzelfall dar. So hat der eine von uns[7] durch längere Zeit an einem größeren Tiermaterial die Krampfschwelle des Kaninchens bei intravenöser Injektion einer 10%igen Cardiazollösung mit einer ganz bestimmten Geschwindigkeit festgestellt. Die graphische Darstellung (Abb. 14) zeigt deutlich einen Gipfel bei 12 und einen anderen bei 15 mg/kg. Die gleiche Lage dieser Gipfel für das ältere Material von 100 Tieren (schraffiert) und das insgesamt erarbeitete von 300 Tieren spricht dafür, daß es sich hier um tatsächliche Empfindlichkeitsunterschiede handelt. In diesem Falle gelang Nachtsheim[8] der Nachweis, daß es sich bei den empfindlichen Tieren um sogenannte „weißen Wiener"

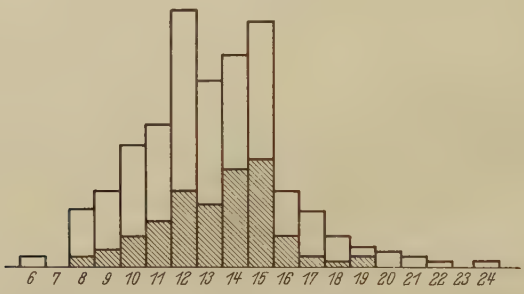


Abb. 14. Lage der Cardiazol-Krampfschwellen für 100 (schraffiert) bzw. 300 Kaninchen.

handelt. Hier trifft also das Merkmal der Giftempfindlichkeit mit dem des äußerlich sichtbaren Kennzeichens (weiße Haarfarbe, blaue Augen) zusammen.

Auch von anderer Seite ist auf die Möglichkeit von Teilkollektiven mit verschiedener Empfindlichkeit hingewiesen worden. So geben z. B. Mc Farlane und Masson[9] ein Schaubild ihrer Ergebnisse der Digitalisauswertung an der Katze (l. c. Abb. 1, S. 299), welches einen Hauptgipfel bei 18 ccm und einen zweiten niederen Gipfel bei 26 ccm zeigt. Sie schreiben über ihn: „Offenbar kennzeichnet er eine besondere Gruppe von Katzen, die eine höhere Widerstandskraft gegen das Gift der Digitalis aufweist . . ." Ferner wurden ähnliche Erfahrungen von verschiedenen Diskussionsrednern auf der 13. Tagung der Deutschen Pharmakolog. Gesellschaft in Gießen 1936 im Anschluß an das Referat von Burn über die Anordnung biologischer Auswertungsmethoden bekanntgegeben. Burn selbst wies auf diese Möglichkeit hin[10], indem er sagte: „Unterschiede im Tierstamm . . . können selten vermieden werden." Eine theoretische Behandlung unseres

[7] Biehler, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 693—699 (1935); sowie: Allg. Z. f. Psychiatrie u. Grenzgeb. **116**, 22 (1940). — [8] Nachtsheim: Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 168—171. — [9] Mc Farlane u. Masson: J. Pharmakol. (Am.) **30**, 293 (1927). — [10] Burn: Verh. Dtsch. Pharmak. Ges. **1936**, S. 39.

Problems fanden wir in der Literatur nur an einer Stelle: W. Schäfer[11] erwähnt, daß sich hinsichtlich der dl_{50} eine ideale reine Linie genau so verhalten könne, wie ein Gemisch aus mehreren Rassen „oder gar wie zwei Rassen, von denen die Tiere der einen Rasse bei Injektion der betreffenden Giftdosis (s. c. der dl_{50}) alle am Leben bleiben, die der anderen alle sterben" (l. c. Abb. 1c). Allein Schäfer befaßte sich nicht weiter mit der Frage, welche Änderung der Verlauf der Trevanschen Sigmoide in diesem Falle erfährt.

Die angeführten Befunde bestärken uns in der Überzeugung, daß man der Asymmetrie in der Verteilungskurve des Versuchstiermaterials eine größere Beachtung als bisher schenken sollte. Darüber hinaus bilden unsere Beobachtungen die experimentelle Unterlage für eine klinische Aufgabe: Es ist durchaus unwahrscheinlich, daß hinsichtlich der Arzneimittelwirkung „alle Menschen gleich" sind. Die von Haffner und Schultz[12] aufgestellten „Normdosen" dürfen keinesfalls als Beleg hierfür angeführt werden, sollen sie doch nach den einleitenden Ausführungen der Verfasser gerade die individuelle Behandlung und Abweichung von der Durchschnittsdosis erleichtern. Erfahrene Kliniker haben schon immer für Digitalis, Jod usw. auf die verschiedene Ansprechbarkeit und Bedürftigkeit der Bevölkerung verschiedener Gegenden hingewiesen. Es dürfte eine dankenswerte Aufgabe sein, neben den landschaftlich-klimatologischen diese rassen- und stammesmäßigen Unterschiede herauszuarbeiten.

Zusammenfassung.

Ausgehend von den bei der kritischen Beurteilung biologischer Versuche gewonnenen Erfahrungen wird besonders auf das mögliche Vorkommen von verschieden giftempfindlichen Unter-Rassen hingewiesen, welche sich gelegentlich nur durch dieses Kennzeichen und nicht durch die gewohnten sichtbaren Unterschiedsmerkmale (wie Körpergröße, Haarfarbe usw.) voneinander abheben. Es wird die Kurvenform erörtert, welche aus der Beziehung Dosis zu Mortalität auf das Vorliegen zweier solcher Jordanone zu schließen gestattet. Die allgemeine Bedeutung des Befundes wird besprochen.

---

[11] Schäfer, W.: Arbeiten aus d. Staatl. Inst. f. exper. Ther. usw. in Frankfurt a. M., Heft 32, S. 51–112 (1935). — [12] Haffner, R., u. E. O. Schultz: Normdosen der gebräuchl. Arzneimittel. Stuttgart 1937.

Über den Einfluß einiger Sperrflüssigkeiten und spezieller Antikoagulationspräparate auf die Gerinnung des Blutes.

Von

Dr. **Karel Jiřina**, Prag.

(Eingegangen am 28. Mai 1941.)

Bei biologischen Versuchen, die zwecks Titration von Heilmitteln an Kaninchen ausgeführt werden, wobei es sich um Heilmittel handelt, die den Blutdruck beeinflussen, macht sich die zeitweilige Verstopfung der Kanüle, die in die Arterie eingeführt worden ist, recht unangenehm bemerkbar.

Verschiedene Lösungen, welche gegen die Gerinnung des Blutes wirken und als Sperrflüssigkeiten angewendet werden und einige spezielle Präparate, welche dazu als geeignet empfohlen worden sind, wurden in dieser Richtung untersucht. Zur Narkose der Tiere wurde meist Pernocton benutzt und zwar 0,5 ccm pro 1 kg Körpergewicht, wobei die Lösung mit einer Geschwindigkeit von 0,5 ccm in 1 Min. intravenös appliziert wurde. Nur in wenigen Fällen wurde dazu Urethan verwendet (20% Lösung, 1,8 g Urethan s. c. pro 1 kg).

Die geprüften Sperrflüssigkeiten waren: 1. halbgesättigte Lösung von $MgSO_4$, 2. halbgesättigte Lösung von Na_2SO_4, 3. 2%ige Lösung von Natrium citricum, 4. 2%ige Lösung von Natrium oxalicum, 5. Lösung folgender Zusammensetzung: $NaHCO_3$ 186,0, Na_2CO_3 anhydric. 286,0, Aq. dest. ad 4000,0, 6. Mischung von gleichen Teilen halbgesättigter Lösungen von $MgSO_4$ und Na_2SO_4.

Spezielle Antikoagulationsmittel, deren Wirkung geprüft worden ist, waren: Liquoid, Heparin und Hirudin. Sperrflüssigkeiten, welche dabei in Anwendung gelangten, waren die unter 1. bis 4. angeführten.

Mit Rücksicht darauf, daß bei Titrationen eine längere Zeitdauer als von 4 Stunden nicht in Betracht kommt, wurde diese Zeitspanne als endgültig angesehen und längere Zeitintervalle, die in vereinzelten Fällen konstatiert worden sind, bei der Durchschnittsberechnung nicht in Betracht gezogen.

A. Sperrflüssigkeiten.

Die Wirkungsdauer der geprüften Flüssigkeiten ersieht man am besten aus folgender Tabelle:

Sperrflüssigkeit	Zahl der Versuche	Versuchszeit minimal	Versuchszeit maximal	Durchschnittlich
Halbgesättigte $MgSO_4$-Lösg.	10	55 Min.	mehr als 4 Std.	2 Std. 28 Min.
Halbgesättigte Na_2SO_4-Lösg.	10	40 „	3 Std. 20 Min.	1 Std. 36 Min.
2% Na-oxal.-Lösg.	13	6 „	mehr als 4 Std.	47 Min.
2% Na-citric.-Lösg.	14	4 „	43 Min.	14 Min.
$NaHCO_3$, Na_2CO_3-Lösg. ...	16	11 „	3 Std. 40 Min.	2 Std. 26 Min.
Halbg. $MgSO_4$, Na_2SO_4-Lösg.	11	1 Std. 18 Min.	mehr als 4 Std.	2 Std. 48 Min.

Ein Unterschied zwischen Kaninchen verschiedener Rasse wurde nicht festgestellt. Das Gewicht der Versuchstiere scheint eine wichtige Rolle zu spielen, da Versuche, die an sehr leichten und zu schweren Tieren vorgenommen wurden, nicht so gute Versuchszeiten lieferten, wie Tiere, die gegen 2 kg schwer waren. Es ist möglich, ein Tier zweimal, zunächst an der einen und später an der anderen Carotis zu Versuchszwecken zu verwenden. Das Geschlecht der Tiere ist nicht ohne Bedeutung; an Weibchen gedeihen die Versuche besser und länger.

Blutdruckstörungen, welche bei der Registration des Blutdrucks konstatiert waren, traten meist beim Nachlassen der narkotischen Wirkung Pernoctons auf und es handelte sich dabei um vorübergehenden, kurz andauernden Herzstillstand, deutliche Atemwellen, Tachycardie, Extrasystolie, Arhythmie, Bradycardie. Bei Verwendung der $NaHCO_3$-, Na_2CO_3-Lösung traten außerdem noch Vaguspulse, Vorhofflimmern, Blutdruckerhöhung, Blutdruckabfall hinzu. Am ruhigsten verlief die Registration bei Verwendung der halbgesättigten Na_2SO_4-Lösung als Sperrflüssigkeit. Von den übrigen Sperrflüssigkeiten ist die 2%ige Na- oxal.-Lösung toxisch; ein Versuch, der 7 Minuten lang dauerte, endigte letal. Die Lösung von Na-bicarb. und Na-carbonic. erzeugte außer den Blutdruckstörungen auch pathologische Veränderungen in der Lunge der Versuchstiere: punktförmige Blutungen und manchmal auch partielle subacute Pneumonie.

Das von mir konstruierte Gemisch halbgesättigter Lösungen von $MgSO_4$ und Na_2SO_4 wurde zu Blutdruckversuchen deshalb herangezogen, weil ich die lange Zeit andauernde antikoagulierende Wirkung der halbgesättigten Lösung von $MgSO_4$ und die den Blutdruck am wenigsten störende Wirkung der halbgesättigten Lösung von Na_2SO_4 vereinigen wollte. Der erzielte Durchschnitt der Versuchsdauer ist auch tatsächlich der größte von denen, die bei den anderen Lösungen erzielt wurden.

Zusammenfassend kann man konstatieren, daß von den sechs geprüften Sperrflüssigkeiten das Gemisch halbgesättigter Lösungen von $MgSO_4$ und Na_2SO_4 die intensivste antikoagulierende Wirkung aufweist. In weiterer Reihenfolge solcher Wirkung kommen in Betracht: halbgesättigte Lösung von $MgSO_4$, Lösung von Natriumbicarbonat und Natriumcarbonat, halbgesättigte Lösung von Na_2SO_4, 2%ige Lösung von Natriumoxalat und zuletzt 2%ige Lösung von Natriumcitrat.

Die Blutdruckregistration ist bei der halbgesättigten Na_2SO_4-Lösung relativ störungslos, weiter verläuft die Registration des Blutdrucks unter Zuhilfenahme halbgesättigter $MgSO_4$-Lösung und der Mischung beider dieser Lösungen ziemlich ruhig. Andere von den geprüften Sperrflüssigkeiten kann man nur in Ausnahmefällen zu Titrationen verwenden, einerseits wegen der kurzfristigen Wirkung, andererseits wegen der ungünstigen Beeinflussung der Registrationskurve.

B. Spezielle Antikoagulationsmittel.

a) Liquoid.

Liquoid, ein synthetisches Mittel zur Hemmung der Blutgerinnung sowohl in vitro als auch in vivo, wurde den Kaninchen unmittelbar vor Beginn der Versuche als 1%ige Lösung, 1 ccm pro 1 kg Körpergewicht, intravenös einverleibt.

Die Tabelle zeigt die minimale, maximale und durchschnittliche Versuchsdauer bei Benutzung vier verschiedener Sperrflüssigkeiten:

Sperrflüssigkeit	Versuchsdauer		Durchschnittlich
	minimal	maximal	
2% Na-Citrat-Lösg.	1 Std. 13 Min.	mehr als 4 Std.	2 Std. 26 Min.
2% Na-Oxalat-Lösg.	25 Min.	mehr als 4 Std.	1 Std. 22 Min.
Halbgesättigte Na_2SO_4-Lösg. ..	51 Min.	2 Std. 33 Min.	1 Std. 34 Min.
Halbgesättigte $MgSO_4$-Lösg.	1 Std. 26 Min.	mehr als 4 Std.	3 Std. 7 Min.

Aus der Tabelle geht hervor, daß Liquoid die sonst kurz andauernde Wirkung des Natriumcitrats und Natriumoxalats auf beachtenswerte Art zu verlängern vermag. Bei Benutzung der halbgesättigten Na_2SO_4-Lösung als Sperrflüssigkeit war keine Verlängerung der Versuchsdauer zu beobachten und bei der halbgesättigten $MgSO_4$-Lösung war die Blutkoagulation durchschnittlich bloß um 39 Minuten hinausgeschoben.

Blutdruckstörungen waren auch bei diesen Versuchen zu beobachten, wobei die Störungen oft recht bedeutend und lebensbedrohlich waren. So wurden nebst Störungen, welche ad A. dieser Arbeit angeführt sind, auch noch Vaguspulse, asphyktische Krämpfe und andauernde Blutdrucksenkung beobachtet.

Die toxische Wirkung Liquoids machte sich bei den Versuchstieren dadurch kenntlich, daß eine ziemlich große Anzahl von Kaninchen bei den Versuchen zugrunde ging und bei solchen, die beim Versuch gut davonkamen, nur dann keine pathologischen Veränderungen nachzuweisen waren, wenn die Gabe Liquoids 0,01 g pro 1 kg nicht überstieg. Falls diese Gabe nur um Geringes höher bemessen wurde, ohne aber daß die letale Dosis erreicht worden wäre, dann konnte man als summarisches Sektionsergebnis im Unterhautbindegewebe, am Herzen, in der Lunge, in der

Lendengegend des Peritoneums, an der Muskulatur der Zwischenrippenräume Blutungen, Hyperämie der Nebennieren und Dilatation der Hautgefäße konstatieren. — Bei Kaninchen, die während der Versuche umgestanden sind, konnte man als summarisches Sektionsergebnis vorfinden: Pneumonie, Blutungen in der Lunge, Nierenentzündung, fettige Entartung der Leber, Nebennierenentzündung, punktförmige Blutungen am Thymus, Herzen, Bauchfell, Blutstauung in den Herzvorhöfen und in der V. portae, Blutungen an der Serosa und Schleimhaut des Blinddarms. Der Tod der Kaninchen trat manchmal sofort nach der intravenösen Injektion oder innerhalb von 3—44 Minuten nach der Injektion ein. In vereinzelten Fällen auch später. Dabei kam es zunächst zum Atemstillstand und erst später zum Herzstillstand. Bei der näheren Untersuchung, die ich zwecks Feststellung der Todesursache der Kaninchen anstellte, wurde konstatiert, daß es sich in den fraglichen Fällen durchweg um ältere Lösungen, die Licht und Zimmertemperatur ausgesetzt waren, handelte. Auch die Schnelligkeit der Injektion, 2—2,5 ccm innerhalb von 30 Sek., war viel zu groß. Weitere Versuche wurden dann nur mit frischen oder nur einige wenige Tage alten Lösungen, die im Dunkeln und bei + 4° C aufbewahrt waren, ausgeführt. Die Schnelligkeit der i. v. Injektion wurde auf 1 ccm in 1 Min. herabgesetzt. Aber auch dann traten noch einige Todesfälle bei den Kaninchen auf. In diesen Fällen handelte es sich um ein Pulver, welches sehr leicht in Wasser löslich war. Pulver, welches zur vollkommenen Auflösung längere Zeit beanspruchte, hatte nicht eine derartig unangenehme Wirkung.

Die gleiche Lösung wirkte durchaus nicht antikoagulierend, wenn die Francksche Kanüle damit vollgefüllt wurde anstatt daß das Mittel intravenös injiziert worden wäre. Meist wurde festgestellt, daß die Versuchsdauer sogar kürzer ausfiel, als wenn die betreffende Sperrflüssigkeit allein angewendet worden wäre.

In rein technischer Hinsicht wäre zu bemerken, daß die Arbeit an einem mit Liquoid präparierten Tiere sich recht schwierig gestaltet, da es oft zur beträchtlichen Kapillarblutung kommt.

b) Hirudin.

Hirudin ist ein graugrünes Pulver, welches aus Blutegeln hergestellt wird. Die Ursache der Wirkung Hirudins gegen die Gerinnung des Blutes ist bis jetzt nicht recht bekannt. Zu meinen Versuchen verwendete ich das Produkt der Firma Sachsee u. Co. — Konzentration der angewendeten Lösungen: 0,1 g in 100 ccm H_2O. Die Lösung wurde intra venam in einer Menge von 0,5 ccm pro 1 kg und mit einer Schnelligkeit von 1 ccm in 1 Min. appliziert. Bis auf wenige Ausnahmen wurden frisch bereitete Lösungen angewendet.

Die Ergebnisse der Versuche, unter Benutzung vier verschiedener Sperrflüssigkeiten, sind in dieser Tabelle angeführt:

Sperrflüssigkeit	Zahl der Versuche	Versuchsdauer minimal	Versuchsdauer maximal	Durchschnittlich
2% Na-Citrat-Lösg.	10	5 Min.	18 Min.	12 Min.
2% Na-Oxalat-Lösg.	11	4 „	2 Std. 57 Min.	33 Min.
Halbgesättigte Na_2SO_4-Lösg.	15	15 „	2 Std. 56 Min.	1 Std. 1 Min.
Halbgesättigte $MgSO_4$-Lösg.	11	55 „	mehr als 4 Std.	2 Std. 48 Min.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß nur bei Benutzung der halbgesättigten $MgSO_4$-Lösung die Versuchsdauer durchschnittlich um 20 Min. verlängert wurde, während alle anderen Versuche kürzere Zeit dauerten als wenn die genannten Sperrflüssigkeiten allein angewendet worden wären.

Tod der Versuchstiere während des Experiments oder als seine unmittelbare Folge ereignete sich bloß zweimal, einmal als Mg-Sulfatlösung, das andere Mal als Na-Oxalatlösung zur Anwendung kam. Der Sektionsbefund war negativ. — Ältere Hirudinlösungen führten bedeutend früher zur Blutgerinnung in der Kanüle als frische.

Blutdruckstörungen waren auch während dieser Versuche zu beobachten und es sind besonders Atemwellen II. Ordnung, vorübergehender Herzstillstand, Extrasystolie, Tachycardie, Arhythmie, Bradycardie, in vier Fällen Vaguspulse, in vereinzelten Fällen vorübergehende oder sukzessive Blutdrucksenkung zu erwähnen. — Beim Kaninchen, welches während des Versuchs starb, war die Registration des Blutdrucks durchweg arhythmisch.

An weiteren sechs, durch Urethan narkotisierten Kaninchen kam es zur Blutkoagulation in der Kanüle, bei Benutzung halbgesättigter Na-Sulfatlösung als Sperrflüssigkeit, durchschnittlich nach 48 Minuten und es ist daraus zu ersehen, daß dieser Durchschnitt ungünstiger ist als der, welcher bei der Pernoctonnarkose erreicht wurde. Auch die Störungen des Blutdrucks waren ausgeprägter.

Die gleiche Hirudinlösung wurde auch, anstatt zur intravenösen Injektion, als Füllung der Frankschen Kanüle benutzt. Diese Modifikation hat sich aber in keiner Richtung bewährt.

Alle Kaninchen wurden nach Beendigung der Versuche getötet und seziert. Der Sektionsbefund war durchweg negativ.

Zusammenfassend kann man sagen, daß sich eine 1%ige Lösung von Hirudin als spezifisches, gegen die Blutgerinnung in der Kanüle wirkendes Mittel nicht bewährt hat.

c) Heparin.

Heparin, ein bekanntes Präparat zur Konservierung des Blutes, wurde auch geprüft und ich muß gestehen, daß ich über das Endergebnis der Versuche enttäuscht war. Angeblich soll Heparin noch in einer Konzentration 1 : 300000 antikoagulierend wirken, nach parenteraler Einverleibung die Koagulation des Blutes der Versuchstiere bereits in einigen Minuten

aufheben und das Blut 1—3 Stunden lang im ungeronnenen Zustand erhalten, ungiftig sein und 1 mg Heparin 5—10 ccm Pferde- bzw. Hundeblut in vitro im ungeronnenen Zustand erhalten.

Zum Präparieren der Versuchstiere wurde eine Lösung von 1 mg Heparin in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung benutzt und die Lösung mit einer Geschwindigkeit von 1 ccm in 30 Sekunden intravenös injiziert. Verwendet wurde das Produkt der Firma Dr. Theodor Schuchardt.

Ergebnis der Versuche.

Sperrflüssigkeit	Zahl der Versuche	Versuchsdauer minimal	Versuchsdauer maximal	Durchschnittlich
2% Na-Citrat-Lösg.	10	4 Min.	51 Min.	14 Min.
2% Na-Oxalat-Lösg.	10	3 „	34 Min.	15 „
Halbgesättigte Na_2SO_4-Lösg.	10	8 „	1 Std. 11 Min.	44 „
Halbgesättigte $MgSO_4$ Lösg.	10	55 „	3 Std. 45 Min.	2 Std. 16 Min.

Es wurde demnach kein besseres, sondern sogar ein schwächeres Resultat erzielt als wenn man die Sperrflüssigkeiten allein benutzt hätte. Blutdruckstörungen, welche während der Versuche auftraten, glichen denen, welche bei den übrigen Versuchen konstatiert worden sind. — Es wurden gleiche Versuchsergebnisse erzielt sowohl bei Benutzung frischer als auch 6 Wochen alter, im Dunkeln und Kühle aufbewahrter Heparinlösung Bei Weibchen dauerten die Versuche länger als bei Männchen. Gewicht und Rasse der Kaninchen hatten keinen Einfluß. — Bei Kaninchen, die mit Urethan narkotisiert waren, wurde eine bedeutend kürzere Versuchsdauer erzielt. — Von der Gesamtzahl der zu Versuchen benutzten Kaninchen starben einige während der Versuche. Zwei starben als Na-Oxalatlösung, drei als $MgSO_4$-Lösung als Sperrflüssigkeiten angewendet wurden. Nachdem Versuche mit $MgSO_4$-Lösung allein zu keinen Todesfällen führten, scheint Heparin doch nicht eine so schadlose Substanz zu sein wie man annimmt.

Als Füllung der Frankschen Kanüle hat sich 0,00001%ige Lösung von Heparin genau so wenig bewährt wie die Hirudinlösung.

Schlußbetrachtungen.

Bei Blutdruckversuchen, die an Kaninchen ausgeführt werden, sind als die geeignetsten Objekte Weibchen von etwa 2 kg Gewicht zu wählen; am besten im nüchternen Zustand.

Zum Einschläfern der Tiere, falls wir zwischen Urethan und Pernocton die Wahl zu treffen haben, ist besser Pernocton als Urethan zu wählen. Pernocton wirkt bei intravenöser Applikation sofort, so daß man mit der Operation gleich beginnen kann. Nachteil des Pernoctonschlafes ist, daß

er nur relativ kurz andauert. Deshalb ist es notwendig, die Injektion nach 60—90 Minuten in halber Dosis, während des Versuchs, zu wiederholen. Bei der Injektion, die sehr langsam ausgeführt werden muß, 1 ccm in 2 Minuten, kommt es zu einer ziemlich großen Blutdrucksenkung, die in einigen Minuten wieder vorübergeht. Bei vorhergehender intravenöser Injektion von Pituitrin können wir der Blutdrucksenkung zuvorkommen. Falls die Injektion von Pernocton nicht wiederholt wird, wird die Blutdruckregistration arhythmisch.

Von den geprüften Sperrflüssigkeiten bewährte sich am besten eine Mischung gleicher Teile halbgesättigter Lösungen von Magnesiumsulfat und Natriumsulfat. Gut wirkt auch eine halbgesättigte Magnesiumsulfatlösung allein. Die übrigen Lösungen bewährten sich minder gut.

Von den geprüften Spezialpräparaten (Liquoid, Hirudin, Heparin) hat sich keines bewährt.

Aus dem Institut für physiol. Chemie der Universität Wien.

Zur Toxikologie der Stilbene.

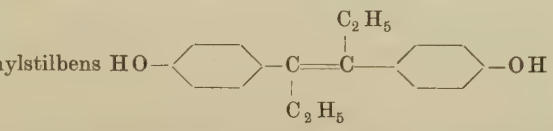
Von

Th. Leipert und **L. Loucopoulos.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. Juli 1941.)

Die Auffindung synthetischer Brunststoffe vom Typ des

4, 4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilbens 

führte zu einem lebhaften Meinungsaustausch über die Vor- und Nachteile einer Therapie mit diesem „Ersatz" der natürlichen Brunststoffe. Trotz ihres verschiedenen chemischen Aufbaues besteht kein qualitativer Unterschied in der Wirkung beider Gruppen. Die Stilbene bringen die Uterusschleimheit zur Proliferation, sie steigern die Wachstumswirkung des Prolans auf die Ovarien und hemmen die Laktation. Hohe Dosen führen bei langdauernden Gaben zur gleichen Hyperplasie der Uterus- und Tubenschleimhaut, wie sie auch nach Oestranderivaten auftritt. Auch die Wirkungen außerhalb der Genitalsphäre sind dieselben. Die periphere Durchblutung wird gesteigert und das erythropoetische System bei hoher Dosierung geschädigt (1). Quantitativ sind die Stilbene den natürlichen Stoffen nicht nur gleichwertig, sondern bei peroraler Verabreichung sogar überlegen. Bedenkt man weiter den technischen Vorteil der rein chemischen Synthese, ihre Unabhängigkeit vom Sammeln und Aufarbeiten großer Harnmengen, wie sie für die Gewinnung der Sexualhormone erforderlich sind und die Rückwirkung dieser Faktoren auf die Preisgestaltung der Handelspräparate, dann ist es begreiflich, daß die Stilbene rasch in die Frauenheilkunde Eingang fanden und mit Erfolg angewandt wurden (2—5). Ebenso verständlich ist aber auch das Mißtrauen, mit dem andere Autoren (6) derart hochaktiven körperfremden Stoffen gegenübertraten und daß sie zur größten Zurückhaltung bei der Anwendung der Stilbene rieten, ehe nicht ihre Unbedenklichkeit beim Menschen eindeutig geklärt war. Dieses Mißtrauen fand eine Stütze in der anscheinend geringeren Verträglichkeit der Stilbene gegenüber den natürlichen Sexualhormonen, besonders aber in den Tierversuchen von Loeser und Grumbrecht (7—9). Die Autoren beobachteten nach subcutaner bzw. intramuskulärer Zufuhr von Cyren (Dioxydiäthylstilben) an ihren Versuchstieren degenerative Veränderungen der Leber, bestehend in einer feintropfigen Verfettung

der Leberzellen und im Auftreten von miliaren bis herdförmigen Leberzellnekrosen. Diese ließen sich besonders gut nach kleinen Dosen innerhalb der ersten drei Wochen beobachten, heilten aber später wieder aus, auch nach weiterer Verabreichung und nach hohen Dosen von Cyren, so daß anscheinend eine Gewöhnung an den Stoff eingetreten war. Die Empfindlichkeit der verschiedenen Tiere ist nicht gleich und nimmt in folgender Reihe ab: Katze, Ratte, Maus, Kaninchen, Meerschweinchen und Hund.

Bei einer Nachprüfung dieser Ergebnisse fanden andere Untersucher teils eine Verfettung der Leberzellen (10), teils vermißten sie jede degenerative Verfettung; niemals aber sahen sie toxische Veränderungen an der Leber im Sinne einer Nekrose, also des Zugrundegehens von Leberparenchym [Huf (11), Keeser (12), Rarei und Engelhardt (13), Arnold und Hamperl (14), Steinkamm (15)]. Allfällige Nebenwirkungen einer Therapie mit Stilbenen dürfen keineswegs dem Stilben als Lebergift zugeschrieben werden, sondern seien auf das ölige Lösungsmittel zurückzuführen [Ratschow und Steckner (16), Kreitmair und Sieckmann (17)].

Da diese Befunde ausschließlich mit histologischer Technik erhoben wurden, prüften wir im folgenden die Möglichkeit, ob sich vielleicht auf chemischem Wege durch Bestimmung der ätherunlöslichen Phenole des Harns mit Hilfe der Millonschen Reaktion der Nachweis einer Leberschädigung erbringen ließe.

Der normale Organismus scheidet nur Spuren ätherunlöslicher Phenole aus, die wir wohl unbedenklich fast zur Gänze auf Tyrosin beziehen dürfen. Der nekrotische Zerfall von Leberzellen dagegen führt zu einer vermehrten Ausscheidung von Tyrosin, das sich in schwersten Fällen, wie bei der akuten gelben Leberatrophie nach dem Konzentrieren des Harns in büschelförmigen Kristallen abscheidet. Ein derartiger Harn färbt sich beim Erwärmen mit Millons Reagens tief rot. In dieser Form ist die Reaktion freilich für unsere Zwecke unbrauchbar und bedarf einer weitgehenden Verfeinerung; denn die möglicherweise nach Stilbenzufuhr auftretenden Lebernekrosen sind geringfügig und die erwartete Mehrausscheidung von Tyrosin dementsprechend klein.

Methodik.

Drei Kaninchen (2 ♂ und 1 ♀) im durchschnittlichen Gewicht von 3,5 kg — eine aus äußeren Gründen nur kleine Zahl — wurden auf eine Kost von Hafer, Heu und Karotten gesetzt und ihr Harn in Tagesportionen und wo dies unmöglich war, in zweitägigen Portionen gesammelt. Zwei Wochen hindurch prüften wir diesen Harn auf ätherunlösliche Phenole, um uns über deren normale Schwankungsbreite hinreichend zu unterrichten. Jedes Tier erhielt sodann durch 15 Tage 0,1 mg Cyren B, das Dipropionat des Diäthyldioxystilbens. Wir steigerten in den folgenden 8 Tagen diese Menge auf 0,5 mg täglich und gaben schließlich noch weitere 6 Tage täglich 2,5 mg Cyren B forte. Insgesamt erhielt jedes Tier innerhalb einer Versuchszeit von 36 Tagen 20,5 mg Cyren B. Wir begannen mit niedrigen Dosen, da wir

nach Loeser unter diesen Bedingungen am ehesten eine Schädigung der Leber erwarten konnten. Auch schienen uns die bisher von anderen Untersuchern im Tierversuch angewandten Dosen viel zu hoch und kaum den therapeutischen Dosen beim Menschen vergleichbar, obgleich es schwierig sein dürfte, bei der außerordentlich wechselnden Empfindlichkeit der Versuchstiere überhaupt eine Parallele zum Menschen zu ziehen. In der früher erwähnten Empfindlichkeitsreihe nimmt das Kaninchen eine Mittelstellung ein.

Zur Bestimmung der ätherunlöslichen Phenole werden 30—50 ccm Harn mit etwas Sojamehl 1—2 Stunden im Brutschrank angesetzt. Die Zerstörung des Harnstoffs erfolgt rasch und ist bei Bestimmung kleiner Millonwerte nicht zu umgehen, da der auf Nitritzusatz frei werdende Stickstoff zu ständiger Bläschenbildung im Tauchgefäß und am Tauchstab des Kolorimeters Anlaß gibt und so die Genauigkeit der Ablesung beeinträchtigt [siehe auch Felix und Teske (18)]. Man versetzt 10 ccm des so vorbehandelten Harns in einem Zentrifugenglas mit 10 ccm Bleiessig (300 g Bleiacetat in 1000 ccm Wasser werden mit 100 g Bleioxyd einige Minuten gekocht und filtriert), zentrifugiert, fügt 7 ccm 20%ige Schwefelsäure zu, zentrifugiert abermals und filtriert eventuell die so vom überschüssigen Blei befreite Flüssigkeit. 10 ccm des schwefelsauren Filtrats werden zweimal mit je 10 ccm peroxydfreien Äthers ausgeschüttelt, die vereinigten Ätherauszüge mit 2 ccm 20%iger Schwefelsäure geschüttelt und die schwefelsauren Anteile vereinigt. Man befreit sie durch Einstellen der Eprouvette in heißes Wasser von gelöstem Äther, fügt 5 ccm Quecksilberreagens nach Lugg (19) dazu und hält 30 Minuten im Trockenschrank bei 65°. Nach einstündigem Erkalten bei Zimmertemperatur wird von einer geringen Trübung in eine graduierte 25-ccm-Eprouvette abfiltriert, das Filter mit 5 ccm eines verdünnten Quecksilberreagens nachgewaschen (5 ccm Quecksilberreagens + 4 ccm H_2O + 1 ccm 5 n-H_2SO_4) und das Volumen mit 5 n Schwefelsäure auf 24,5 ccm gebracht. Auf Zusatz von 0,5 ccm 6,9%igen Natriumnitrits entwickelt sich eine Rotfärbung, die nach 3 Minuten im Photometer von Leitz bei Filter 51 und möglichst hoher Schicht ausgemessen wird. Eine zweite Probe des Filtrats behandelt man in gleicher Weise mit Äther und Quecksilberreagens, ergänzt jedoch das Volumen mit 5 n Schwefelsäure sofort auf 25 ccm und mißt bei Filter 51 den „Gelbwert" der Lösung, der vom „Rotwert" in Abzug gebracht wird.

Man kann Gelb- und Rotwert auch in einer Probe ermitteln, indem man nach der Merkurierung der Phenole nur auf 24 ccm auffüllt und die Lösung teilt. In einem Teil entwickelt man durch Zugabe von 0,25 ccm Nitritlösung die Rotfärbung, der andere Teil wird mit 0,25 ccm 5 n H_2SO_4 versetzt und dient zur Bestimmung des Gelbwertes.

Zur Aufstellung der Eichkurve gingen wir nicht von reinen Tyrosinlösungen aus, sondern wir untersuchten Kaninchenharn, dem bekannte Tyrosinmengen zugesetzt wurden in der beschriebenen Weise und brachten den Extinktionswert für denselben Harn ohne Tyrosinzusatz in Abzug. Wir vermieden dadurch jede Beeinträchtigung der Farbintensität durch die im Harn enthaltenen Salze und Verbindungen.

Ergebnisse.

Tabelle 1 zeigt die an Tier 1 gewonnenen Ergebnisse, die mit den an den beiden anderen Tieren erhaltenen Zahlen vollkommen übereinstimmen.

Nirgends wird die Schwankungsbreite der normalen Tyrosinausscheidung überschritten. Die Werte liegen im Gegenteil nach Cyrenzufuhr vielfach tiefer als vorher. Die Änderungen der Tyrosinausscheidung scheinen ausschließlich durch die Schwankungen der Harnmenge bedingt zu sein, denn der Prozentgehalt des Harns an ätherunlöslichen Phenolen

Tabelle 1.

Zeit	Harn: Tagesmenge ccm	Harn: Tyrosin mg	Cyren mg	Zeit	Harn: Tagesmenge ccm	Harn: Tyrosin mg	Cyren mg
13. 3.	425	12,6	—	3. 4.	325	5,9	0,5
14. 3.	525	14,4	—	4. 4.	255	6,5	0,5
15. 3. / 16. 3.	630	16,2	—	5. 4. / 6. 4.	470	14,0	0,5
17. 3.	275	17,3	0,1	7. 4.	150	8,4	0,5
18. 3.	350	10,3	0,1	8. 4.	170	8,7	0,5
19. 3.	450	14,6	0,1	9. 4.	90	6,7	0,5
20. 3.	500	12,6	0,1	10. 4.	130	7,0	0,5
21. 3.	325	8,2	0,1	11. 4.	140	4,6	0,5
22. 3. / 23. 3.	700	24,3	0,1	12. 4. / 13. 4.	205	8,2	—
24. 3.	210	5,1	0,1	14. 4.			
25. 3.	225	9,2	0,1	15. 4.	80	4,8	2,5
26. 3.	140	6,2	0,1	16. 4.	140	9,3	2,5
27. 3.	70	5,0	0,1	17. 4.	120	12,7	2,5
28. 3.	275	12,5	0,1	18. 4.	33	2,8	2,5
29. 3. / 30. 3.	475	22,0	0,1	19. 4. / 20. 4.	220	11,1	2,5
31. 3.	370	9,2	0,1	21. 4.	70	10,8	2,5 + 3 g Tyrosin
1. 4.	450	6,9	0,1				
2. 4.	410	9,0	0,1	22. 4.	78	9,3	—

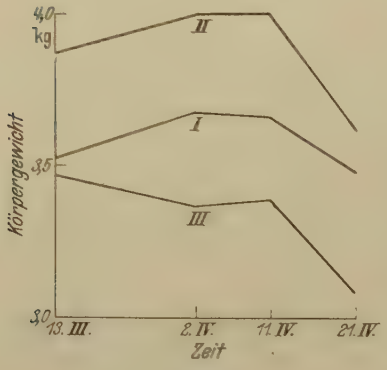


Abb. 1.

ändert sich nur wenig. Parallel mit dem Absinken des Tyrosins im Harn geht daher ein Absinken der Harnmenge. Den Tagesmengen von 300 bis 500 ccm zu Beginn des Versuches stehen Mengen von 100—200 ccm gegen Ende der Versuchsreihe gegenüber, trotz gleicher Beschaffenheit des Futters während der ganzen Versuchszeit. Sehr auffällig spiegelt sich in diesem Befund die bereits von anderen Autoren beschriebene Freßunlust der Tiere wieder, die natürlich auch in den Gewichtskurven zum Ausdruck kommt (Abb. 1). Kleine Dosen zeigen noch keinen wesentlichen Einfluß. Kaninchen 1 und 2 nehmen sogar zu. Erst nach Zufuhr relativ hoher Dosen tritt bei allen Tieren der Gewichtsabfall auf. Veränderungen des Haarkleides, wie sie an Ratten beobachtet wurden (7), konnten wir nicht feststellen.

Die Ursache einer vermehrten Tyrosinausscheidung bei Lebernekrosen ist in erster Linie in der Autolyse von Lebereiweiß zu suchen. Doch ist dies nicht der einzige Grund. Berücksichtigen wir, daß der Organismus Aminosäuren, selbst wenn er damit überschwemmt wird, nur in Spuren zur Ausscheidung bringt und daß er derart hochwertige Baustoffe vor ihrem

Abbau in hervorragender Weise in Leber und Muskulatur zu verankern vermag, dann bleiben selbst nach Leberschädigung die Verluste an Tyrosin unerklärlich, wenn wir nicht gleichzeitig eine Störung im Tyrosinabbau annehmen. Sie hat zur Folge, daß nicht nur das durch Autolyse freigewordene Tyrosin unausgenutzt den Organismus verläßt, sondern daß auch das Tyrosin aus dem Nahrungseiweiß das gleiche Schicksal teilt. Während daher normale Kaninchen selbst große Tyrosinmengen ausgezeichnet abbauen (20), mußten wir bei Tieren, deren Leber durch Stilben geschädigt war, nach Tyrosinbelastung eine vermehrte Ausscheidung dieser Aminosäure erwarten. Unsere Tiere erhielten daher am 21. April nach der letzten Cyrengabe je 3 g l (—) Tyrosin aufgeschwemmt in 60 ccm Wasser mit der Schlundsonde. Wie Tabelle 1 zeigt, bleibt auch bei Cyren-Tieren jede Vermehrung der Tyrosinausscheidung aus.

Zur Prüfung der Kohlehydrattoleranz belasteten wir schließlich jedes Tier noch mit 2 g Glucose je kg Körpergewicht. Die hyperglykämische Reaktion verlief normal. So war der Blutzucker bei Tier 1 nach $2^1/_2$ Stunden zur Norm zurückgekehrt.

Zeit:	Nüchtern	15 Min.	40 Min.	1 Std.	$1^1/_2$ Std.	2 Std.	$2^1/_2$ Std.	3 Std.
Blutzucker, mg%:	143	195	197	203	199	170	146	141

Dasselbe hatten wir an normalen Tieren gesehen (20). Wir vermissen daher nach Cyrenzufuhr auch jeden funktionellen Schaden der Leber, zumindest was den Kohlehydrat- und Eiweißstoffwechsel anlangt.

Auch der Versuch, durch einen Cyrenstoß eine chemisch nachweisbare Leberschädigung zu setzen, blieb ergebnislos. Zwei Kaninchen erhielten die Cyrenmenge von 20 mg, die wir in der früheren Versuchsreihe auf 5 Wochen verteilt hatten, auf einmal subcutan. Wir konnten nach Tabelle 2 im Harn der folgenden Tage keine über die übliche Schwankungsbreite hinausgehende Tyrosinvermehrung finden.

Tabelle 2.

Zeit	Harn I		Cyren	Zeit	Harn II		Cyren
	Tagesmenge ccm	Tyrosin mg	mg		Tagesmenge ccm	Tyrosin mg	mg
23. 4.	175	7,9	—	23. 4.	52	1,2	—
24. 4.	360	11,8	—	24. 4.	170	5,0	—
25. 4.	145	6,7	20	25. 4.	190	6,2	20
26. 4. / 27. 4.	120	9,2	—	26. 4. / 27. 4.	150	3,4	—
28. 4.	155	9,6	—	28. 4.	260	9,4	—

Zusammenfassend läßt sich sagen: Die Untersuchung der ätherunlöslichen Phenolfraktion des Harns mit Cyren behandelter Kaninchen und Belastungsversuche mit Tyrosin und Glucose an diesen Tieren ergeben

keinen Anhaltspunkt für das Auftreten eines organischen bzw. funktionellen Leberschadens nach Stilbenzufuhr, im Gegensatz zu den Untersuchungen von Loeser und Grumbrecht, jedoch in Übereinstimmung mit den neueren histologischen Befunden.

Literatur.

1) Huf, E.: Klin. Wschr. **1941**, S. 729. — 2) Antoine, T.: Zbl. Gynäk. Nr. 34, 1899 (1939). — 3) Preissecker, E.: Ebenda, S. 1904. — 4) Limburg, H.: Ebenda, S. 1910. — 5) Büttner, W.: Ebenda, S. 1918. — 6) Buschbeck, H., u. K. Hausknecht: Klin. Wschr. **1939**, S. 160. — 7) Loeser, A.: Z. exper. Med. **105**, 430 (1939). — 8) Grumbrecht, P., u. A. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 34 (1939). — 9) Grumbrecht, P., u. A. Loeser: Ebenda **195**, 445 (1940). — 10) Pallos, K. v.: Arch. Gynäk. **170**, 372 (1940). — 11) Huf, E.: Klin. Wschr. **1940**, S. 915. — 12) Keeser, E.: Dtsch. med. Wschr. **1940**, S. 1049. — 13) Rarei, B., u. E. Engelhart: Klin. Wschr. **1940**, S. 862. — 14) Arnold, O., u. H. Hamperl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 121 (1940). — 15) Steinkamm, E.: Arch. Gynäk. **170**, H. 3 (1940). — 16) Ratschow, M., u. M. L. Steckner: Z. klin. Med. **137**, 576 (1940). — 17) Kreitmair, H., u. W. Sieckmann: Klin. Wschr. **1940**, S. 474. — 18) Felix, K., u. R. Teske: Z. physiol. Chem. **267**, 173 (1941). — 19) Lugg, J. W. H.: Biochem. J. (Brit.) **31**, 1422 (1937). — 20) Leipert, Th.: Biochem. Z. **270**, 93 (1934).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie, Werk Frankfurt a. M.-Höchst.

Versuche über die gegenseitige Beeinflussung der Resorption und resorptiven Wirkung von Novocain (Pantocain) und Suprarenin (Corbasil).

Von

O. Schaumann.

(Eingegangen am 10. August 1941.)

Seit der Einführung gefäßverengernder Mittel zur Vertiefung und Verlängerung der Wirkung von Lokalanaesthetica durch von Braun[1] werden in der Praxis der Lokalanästhesie fast ausschließlich solche Kombinationen verwendet. Man nimmt dabei nicht nur an, daß die unzweifelhaft feststehende Vertiefung und vor allem Verlängerung der Anästhesie durch die Verzögerung des Abtransportes vom Injektionsort bedingt ist, sondern setzt auch voraus, daß dadurch Resorption und allgemeine Giftigkeit der Lokalanaesthetica ebenfalls vermindert werden. Diese letztere durch die klinische Erfahrung anscheinend bestätigte Annahme ist für die Kombination von Pantocain mit Suprarenin durch eigene[2] Versuche am Kaninchen und durch Mäuseversuche von Oelkers[3] sowie Pulewka u. Mitarbeitern[4,5,6] gestützt worden; Suprareninzusatz konnte in diesen Versuchen die resorptive Wirkung des Pantocain bei subcutaner Injektion wesentlich herabsetzen. Für die anderen Anaesthetica, besonders für die Kombination Novocain/Suprarenin könnte man nach den Angaben der Literatur auf ein entgegengesetztes Verhalten schließen. Eine Reihe von Autoren (Taubmann und Jung[7], Eichholtz und Hoppe[8], Keil und Rühling[9]) hat nachgewiesen, daß, allerdings bei intravenöser Injektion, solche Kombinationen eine Toxizität aufweisen, die noch über eine einfache Addition der Giftigkeit der Komponenten hinausgeht. Nun liegen wohl bei intravenöser Injektion Verhältnisse vor, wie sie bei der praktischen Anwendung der Lokalanaesthetica nicht vorkommen oder wenigstens nicht vorkommen sollen. Vor kurzem hat aber Oelkers[3] in Mäuseversuchen eine ähnliche Toxizitätssteigerung u. a. für die Kombination Novocain/Suprarenin auch bei subcutaner Injektion nachgewiesen. Dieses zunächst überraschende,

---

[1] v. Braun, A.: Arch. Chir. **69**, 541 (1903). — [2] Fussgänger, R., u. O. Schaumann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 53 (1931). — [3] Oelkers, H. A.: Ebenda **196**, 493 (1940). — [4] Pulewka, P.: Arch. intern. Pharmacodynam. **65**, 373 (1941). — [5] Rehm, E.: Inaug. Diss. Tübingen 1934. — [6] Gramm, E.: Ebenda 1935. — [7] Taubmann, G., u. G. Jung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 18 (1930). — [8] Eichholtz, F., u. G. Hoppe: Ebenda **173**, 687 (1933). — [9] Keil, W., u. J. Rühling: Ebenda **179**, 415 (1935).

bei einer orientierenden Nachprüfung von uns bestätigte und auch in wenigen Versuchen bereits von Gramm[6] gefundene Ergebnis, das mit den bisherigen Ansichten in Widerspruch zu stehen schien, regte zu Versuchen an, diese Kluft zwischen Tierversuch und praktischer Erfahrung zu überbrücken.

Bei derartigen Versuchen tauchen einige prinzipielle Schwierigkeiten auf, welche die Beantwortung der Fragestellung und ihre Übertragung in die Praxis erschweren: 1. Die Beeinflussung der Resorptionsgeschwindigkeit durch Kombination von Lokalanaesthetica (L.A.) mit Suprarenin (S) ist eine wechselseitige. 2. Diese gegenseitige Beeinflussung beschränkt sich nicht nur auf die Resorptionsverhältnisse, sondern erstreckt sich auch auf die Allgemeinerscheinungen nach erfolgter Resorption. 3. Infolge der geringen Toxizität des Novocain (N) müssen so große Volumina in relativ konzentrierter Lösung injiziert werden, daß sich solche Versuche von der Art und Weise der praktischen Anwendung weit entfernen müssen. 4. Diejenige klinische Anwendungsweise, bei der hauptsächlich größere Mengen des L.A. Verwendung finden, nämlich die Infiltrationsanästhesie, läßt sich durch eine einzige subcutane Injektion am Tier nicht nachahmen. Alle diese Überlegungen müssen bei der Planung und Auswertung der Versuche berücksichtigt werden, um eventuelle Fehlschlüsse vermeiden zu können.

Bei den vorliegenden Versuchen wurde das Meerschweinchen als Versuchstier gewählt, da es für N empfindlicher ist als die weiße Maus und daher die Dosierung relativ niedriger bleiben kann. Infolge seiner Größe gestattet das Meerschweinchen auch die Aufteilung der Gesamtdosis in eine größere Zahl von Einzeldosen etwa entsprechend einer Infiltrationsanästhesie. Außerdem dürfte das straffere Subcutangewebe des Meerschweinchens mehr Ähnlichkeiten mit den Resorptionsverhältnissen beim Menschen schaffen, als die außerordentlich lockere Struktur der gleichen Partien bei der weißen Maus.

Wie die nachfolgenden Versuchsergebnisse zeigen, ist unter diesen Umständen eindeutig eine Herabsetzung der Toxizität des N durch die Kombination mit S festzustellen.

Methodik.

Zur Verwendung kamen Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 250 bis zu 700 g; die Mehrzahl der Tiere wog 300 bis 400 g. Die N-Lösungen wurden aus Novocain-Chlorhydrat mit dest. Wasser bereitet; das Pantocain-Chlorhydrat wurde in 0,9%iger NaCl-Lösung gelöst. Der S-Zusatz erfolgte unmittelbar vor den Injektionen aus der Handelslösung 1 : 1000. Bei den Versuchen mit einer einzigen Injektion der gesamten Dosis wurde nach Aufheben einer Hautfalte unter die Rückenhaut injiziert; eine Verteilung der injizierten Lösung durch Massage wurde unterlassen. Bei den Versuchen mit unterteilter Dosis erfolgte die Unter-

teilung in 20 bzw. 30 Einzeldosen, die an den Flanken und am Rücken der Tiere möglichst gleichmäßig verteilt wurden. Es wurde besonders darauf geachtet, die Injektionen subcutan zu setzen; bei der großen Anzahl der Injektionen bei jedem Tier mußten sich überdies eventuell vorkommende Fehler in der Lokalisation automatisch ausgleichen. Zur genauen Abmessung der kleinen Einzeldosen wurden Präzidens-Spritzen* von 0,25 ccm Gesamtinhalt unterteilt in 0,005 ccm verwendet. Bei entsprechender Assistenz ist es möglich, die Injektionsserie von 20 bis 30 Injektionen pro Tier in 3—5 Minuten zu beenden. Es kamen über 250 Meerschweinchen mit mehr als 6000 Einzelinjektionen zur Verwendung.

Versuchsresultate.

Die Einzelheiten der verschiedenen Versuchsserien sind aus den Tabellen zu entnehmen. Bei Bezugnahme auf diese im Text bezeichnen die römischen Zahlen die betreffende Tabelle, die arabischen die betreffende Versuchsserie. Der leichteren Übersicht halber wurden die Mortalitäten in Prozenten angegeben, obwohl ein solches Vorgehen in Anbetracht der jeweils geringen Tierzahl eigentlich nicht zulässig ist.

Versuche mit ungeteilter Dosis (Tabelle I).

Die Resultate lassen sich kurz in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Ohne Zusatz von S liegt die absolut tödliche N-Dosis ziemlich scharf bei 400 mg/kg (I, 3).

2. Die gleiche Dosierung von 400 mg/kg wurde bei Zusatz von S 1 : 20000 von allen Tieren überlebt (I, 6).

3. Bei Zusatz geeigneter S-Mengen liegen die Dosen gleicher Toxizität mindestens doppelt so hoch wie ohne S-Zusatz (I, 8, 9 gegen I, 1; I, 10, 11, 12 gegen I, 3).

4. Seitenlage als Ausdruck der resorptiven N-Vergiftung tritt bei S-Zusatz als Folge der Resorptionsverzögerung später auf (I, 4—9 gegen I, 1—3).

5. Für das Verhältnis von N/S-Konzentration gibt es ein Optimum; einerseits darf eine gewisse Gesamtdosis an S nicht überschritten werden, andererseits wieder die S-Konzentration nicht unter ein gewisses Maß sinken. Dieses Optimum ist bei höherer Dosierung enger begrenzt (I, 14 gegen I, 13, 15) als bei geringerer (I, 9, 10 gegen I, 8, 11). Als Todesursache überwiegt bei Unterschreitung des Optimums von N/S Lungenödem als S-Wirkung, während bei Überschreitung zentrale Atemlähmung als N-Wirkung vorherrscht.

---

* Firma Fritz Kühn, Frankfurt a. M., Taunusstr. 19.

Tabelle I.

Versuchsserie Nr.	Novocain Konzentration %	Novocain Gesamtdosis mg/kg	Suprarenin Konzentration 1:	Suprarenin Gesamtdosis mg/kg	N/S	Einzeldosis ccm/100 g	Tierzahl	Seitenlage nach Minuten	Mortalität %	Eintritt des Todes nach Minuten
1	4	300	—	—	—	0,75	5	9, 10, 11, 12, 14	20	80
2	4	350	—	—	—	0,875	5	5, 6, 7, 7, 9	40	36, 37
3	4	400	—	—	—	1,0	5	4, 4, 5, 5, 6	100	70, 70, 80, 90, 140
4	4	300	20000	0,375	800	0,75	5	10, 10, 60	0	
5	4	350	20000	0,44	800	0,875	5	30, 55, 60	0	
6	4	400	20000	0,50	800	1,0	5	6, 35	0	
7	4	500	20000	0,625	800	1,25	5	5, 45, 50, 60	20	50
8	4	600	5000	3,0	200	1,5	10	3, 3, 3, 3, 30, 50, 55, 90, 90	70	5, 5, 5, 7, 85, 230, 300
9	4	600	10000	1,5	400	1,5	5	50	0	
10	4	600	20000	0,75	800	1,5	5	25, 30, 35, 40, 45	0	
11	4	600	50000	0,3	2000	1,5	5	10, 25, 25, 25, 25	20	60
12	4	600	100000	0,15	4000	1,5	5	20, 20, 20, 25, 50	20	60
13	10	800	5000	1,6	500	0,8	5	5, 5, 5, 7, 7	60	35, 75, 180
14	10	800	10000	0,8	1000	0,8	5	5, 5, 8, 10, 10	20	25
15	10	800	20000	0,4	2000	0,8	10	3, 3, 3, 5, 5, 5, 5, 5, 45, 45	70	5, 10, 15, 15 30, 90, 90
16	10	800	50000	0,16	5000	0,8	4	5, 5, 8, 10, 10	75	15, 30, 35

Tabelle II.

Versuchsserie Nr.	Novocain		Suprarenin		N/S	Einzeldosen		Tierzahl	Seitenlage nach Minuten	Mortalität %	Eintritt des Todes nach Minuten
	Konzentration %	Gesamtdosis mg/kg	Konzentration 1:	Gesamtdosis mg/kg		Anzahl	ccm/100 g				
1	4	250	—	—	—	20	0,031	5	3, 3, 3, 3, 5	20	30
2	4	240	—	—	—	30	0,02	5	3, 3, 3, 3, 3	60	5, 15, 25
3	4	320	—	—	—	20	0,04	5	3, 3, 3, 3, 3	80	12, 15, 24, 27
4	4	400	—	—	—	30	0,033	5	3, 3, 3, 3, 3	100	3, 4, 5, 35, 70
5	4	250	20 000	0,31	800	20	0,031	5	55, θ, θ, θ, θ	0	
6	4	320	20 000	0,4	800	20	0,04	15	3, 3, 3/50, 5/25, 6, 6, 6/40, 18, 20, 20, 21, 24, 25, 30, θ	20	5, 60, 70
7	4	400	20 000	0,5	800	20	0,05	10	3, 3, 3, 5, 6, 9, 12, 15, θ, θ	10	70
8	4	400	30 000	0,33	1200	30	0,033	5	5, 30, 40, 40, θ	0	
9	4	480	20 000	0,6	800	20	0,06	5	3, 3, 3, 3, 3/35	100	6, 6, 6, 110, 110
10	4	480	30 000	0,4	1200	20	0,06	5	3, 3, 3, 3, 3	60	70, 200, 240,
11	4	480	30 000	0,4	1200	30	0,04	5	5, 5/70, 25, 40, 80	20	30
12	4	480	50 000	0,24	2000	30	0,04	5	3. 6, 30, 33, 35	20	200
13	10	600	20 000	0,3	2000	30	0,02	5	3, 3, 3, 3, 3	60	70, 75, 100
14	10	600	30 000	0,2	3000	30	0,02	5	3, 3, 3, 3, 7	80	15, 15, 30, 40
15	1	600	200 000	0,3	2000	30	0,2	5	3, 3, 3, 3, 3	40	120, $>$ 300
16	1	600	100 000	0,6	1000	30	0,2	5	3, 3, 20, 20, 25	40	60, $>$ 300
17	1	600	50 000	1,2	500	30	0,2	5	25, 25, 30, 30, 45	60	120, $>$ 300, $>$ 300
18	1	300	—	—	—	30	0,1	5	3, 3, 3, 3, 3	20	25
19	1	400	—	—	—	30	0,133	5	3, 3, 3, 3, 3	80	15, 25, 30, 45

Versuche mit unterteilter Dosis.

Diese Versuche, die in Tabelle II zusammengestellt sind, hatten folgende Ergebnisse:

1. Bei 30facher Unterteilung liegt die absolut tödliche Dosis für N allein bei 400 mg/kg (II, 4).

2. Eine Vermehrung der Unterteilung von 20 auf 30 Einzeldosen bewirkt für N allein eine Zunahme der Toxizität (II, 1, 2).

3. Zusatz von S 1 : 20000 zur 4%igen N-Lösung setzt bei einer Dosis von 400 mg/kg und 20facher Unterteilung die Letalität von 100% (II, 4) auf 10% herab (II, 7).

4. Bei 30facher Unterteilung liegen die N-Dosen gleicher Toxizität mit S-Zusatz mehr als doppelt so hoch (II, 13) als ohne S (II, 2).

5. Während ohne S-Zusatz eine Vermehrung der Unterteilung bei gleicher Gesamtdosis des N eine Zunahme der Letalität beginnt (II, 1, 2), tritt unter den gleichen Umständen bei S-Zusatz eine Verminderung der Toxizität ein (II, 7, 8; II, 10, 11).

6. Für das Verhältnis von N- zu S-Konzentration (N/S) scheint es auch hier ein Optimum zu geben (II, 9, 10; II, 13, 14).

7. Die Vergiftung setzt, gemessen am Zeitpunkt des Eintretens von Seitenlage und gegebenenfalls Tod bei gleichen Novocaindosen nach S-Zusatz wesentlich verzögert ein (II, 5—8 gegen II, 1—4). In einzelnen Fällen trat nach vorübergehender Erholung ein zweites Mal Seitenlage auf; dies wurde durch zwei durch einen Strich getrennte Zahlen (z. B. 3/50) angedeutet (II, 6, 11).

8. Während bei N allein der Tod der Tiere fast stets innerhalb der ersten 30 Minuten unter dem Zeichen zentraler Lähmung ohne Lungenveränderungen eintrat, war bei der Kombination mit S der Eintritt des Todes in der Mehrzahl der Fälle stark verzögert und hatte fast durchweg ein makroskopisch und mikroskopisch nachweisbares Lungenödem als Ursache, worauf bereits Eichholtz und Hoppe[6] hingewiesen haben. Besonders deutlich ist dieser Unterschied bei Verwendung weniger konzentrierter Lösungen (II, 15—19).

Kombination von Novocain mit Corbasil.

Vollkommen analog verliefen die Versuche, wenn an Stelle des Suprarenins das Corbasil in entsprechend höherer Dosierung genommen wurde (Tabelle III).

Kombination von Pantocain mit Suprarenin.

Für diese Kombination liegen die Verhältnisse, wie nach früheren Erfahrungen[2] am Kaninchen und den Mäuseversuchen von Oelkers[3] zu erwarten war, noch günstiger. Wie aus Tabelle IV zu ersehen ist, wird hier

Tabelle III.

Versuchsserie Nr.	Novocain		Corbasil		N/C	Einzeldosen		Tierzahl	Seitenlage nach Minuten	Mortalität %	Eintritt des Todes nach Minuten
	Konzentration %	Gesamtdosis mg/kg	Konzentration 1:	Gesamtdosis mg/kg		Anzahl	ccm/100 g				
1	4	360	10 000	0,9	400	30	0,03	10	3, 15, 20, 20, 30, 35, 35, 45, 45, 60	0	
2	4	400	10 000	1,0	400	30	0,033	5	3, 3, 3, 3, 3	0	
3	4	480	10 000	1,2	400	30	0,04	5	3, 3, 3, 3, 3	40	45, 75
4	4	480	15 000	0,8	600	30	0,04	5	3, 3, 3, 3, 3	40	20, 30
5	4	480	7 500	1,6	300	30	0,04	5	3, 3, 3, 3, 30	0	
6	4	520	7 500	1,73	300	30	0,0433	5	3, 3, 3, 3, 3	20	45
7	4	520	5 000	2,1	200	30	0,0433	5	3, 3, 3, 3, 3	80	10, 40, 50, 60

Tabelle IV.

Versuchsserie Nr.	Pantocain		Suprarenin		P/S	Einzeldosen		Tierzahl	Seitenlage nach Minuten	Mortalität %	Eintritt des Todes nach Minuten
	Konzentration %	Gesamtdosis mg/kg	Konzentration 1:	Gesamtdosis mg/kg		Anzahl	ccm/100 g				
1	0,1	12	—	—	—	30	0,04	5	10, 10, 10, 10, 10	0	
2	0,2	12	—	—	—	30	0,02	5	5, 5, 5, 5, 5	0	
3	0,2	18	—	—	—	30	0,03	5	5, 5, 5, 5, 5	60	20, 20, 22
4	0,4	24	—	—	—	30	0,02	5	5, 5, 5, 5, 5	100	5, 8, 10, 10, 12
5	0,4	24	20 000	0,3	80	30	0,02	5	8, 10, 10, 10, θ	0	
6	0,4	36	20 000	0,45	80	30	0,03	5	20, θ, θ, θ, θ	0	
7	0,4	48	20 000	0,6	80	30	0,04	5	10, 15, θ, θ, θ	0	
8	0,4	60	20 000	0,75	80	30	0,05	5	5, 10, 10, 12, 15	40	5, 40
9	0,4	60	30 000	0,5	120	30	0,05	5	5, 10, 10, 10, θ	40	35, 40
10	0,6	60	20 000	0,5	120	30	0,033	5	5, θ, θ, θ, θ	0	
11	0,8	60	20 000	0,375	160	30	0,025	5	5, θ, θ, θ, θ	20	7
12	0,9	90	20 000	0,5	180	30	0,033	5	3, 30, θ, θ, θ	20	5
13	1,2	120	20 000	0,5	240	30	0,033	5	10, 10, 10, 60, 65	80	65, 75 100, 120

die tödliche Pantocaindosis durch den S-Zusatz um das 5fache und mehr erhöht (IV, 1, 2 gegen IV, 10; IV, 3 gegen IV, 12; IV, 4 gegen IV, 13). Auch hier scheinen die Konzentrationen der beiden Substanzen, ihr gegenseitiges Verhältnis und die Größe der Einzeldosis zur Erreichung eines Optimums eine Rolle zu spielen (IV, 8—11).

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Bei dem Einfluß, den S und verwandte Verbindungen auf die resorptive Vergiftung durch L. A. speziell N haben, muß grundsätzlich zwischen 2 Mechanismen unterschieden werden:

1. Die wechselseitige Beeinflussung der Resorptionsverhältnisse und 2. die gegenseitige Beeinflussung nach erfolgter Resorption. Von einer „Entgiftung" kann strenggenommen nur dann gesprochen werden, wenn ein gegenseitiger Antagonismus nach erfolgter Resorption vorliegt. Ein solcher Mechanismus existiert für L. A. und S-Körper nur auf dem eng begrenzten Gebiet der peripheren Gefäße. Mit Ausnahme des Cocains haben nämlich die L. A. die Eigenschaft, bei relativ hohen Konzentrationen, wie sie resorptiv kaum je in den allgemeinen Kreislauf gelangen, der Gefäßverengerung durch S und verwandte Verbindungen entgegenzuwirken. Dagegen ist bekannt, daß L. A., im besonderen Maße das Cocain, den Organismus für S sensibilisieren. Die beifolgende Tabelle V zeigt z. B. diese Wirkungssteigerung von Suprarenin und Corbasil durch Novocain und Pantocain am Verhalten des Blutzuckers. Die Blutzuckersteigerung nach gleichzeitiger Injektion geht weit über die Summe der Einzelwirkungen hinaus, und zwar auch dann, wenn eine gegenseitige Beeinflussung der Resorption durch getrennte Injektion weitgehend ausgeschaltet wird. Es ist daher zu erwarten, daß sich die resorptiven Wirkungen der L. A.

Tabelle V.

Blutzucker in % des Anfangswertes (Durchschnittswerte von je 3 Tieren).

Dosen mg/kg s. c.	0	30	60	120
	Minuten nach der Injektion			
40 Novocain	100	111	110	106
0,05 Suprarenin	100	99	115	108
40 Novocain + 0,05 Suprarenin	100	125	162	170
Dasselbe, getrennte Injektion	100	113	156	166
80 Novocain	100	97	102	98
0,1 Suprarenin	100	99	121	152
80 Novocain + 0,1 Suprarenin	100	134	204	294
Dasselbe, getrennte Injektion	100	121	183	245
0,1 Suprarenin	100	110	170	205
0,1 Suprarenin + 8 Pantocain	100	138	227	241
0,2 Corbasil	100	101	119	122
0,2 Corbasil + 80 Novocain	100	149	174	186

einerseits und des S andererseits ganz allgemein nicht nur addieren, sondern sogar potenzieren. Die Toxizitätssteigerung der Kombinationen geht dabei in erster Linie auf Rechnung des S. Hierauf haben schon Eichholtz und Hoppe[6] auf Grund ihrer Versuche bei intravenöser Injektion hingewiesen. Bevor eine ähnliche Steigerung der resorptiven N-Wirkung durch S nachgewiesen ist oder wenigstens sichere Anhaltspunkte für eine derartige Annahme vorliegen, ist es daher auch strenggenommen unrichtig, von einer Toxizitätssteigerung der L.A. durch S zu sprechen. Die Symptome, unter denen auch in unseren vorliegenden Versuchen der Tod der Tiere eintrat, sprechen vielmehr für das S als unmittelbare Todesursache.

Diese Überlegungen gelten jedoch nur so lange, als nicht auch die Veränderung der Resorptionsbedingungen eine Rolle spielt, also in erster Linie für die intravenöse Injektion. Bei subcutaner Injektion kommt noch die wechselseitige Beeinflussung der Resorption beider Komponenten hinzu. Diese wird sich in zweierlei Hinsicht auswirken:

1. wird die Resorption des N infolge der Gefäßsperre durch das S verzögert werden. 2. wird im Gegensatz dazu der N-Zusatz durch antagonistische Beeinflussung der Selbstsperre der Resorption mehr S zur allgemeinen Wirkung kommen lassen als bei subcutaner Injektion von S allein. Infolgedessen ist zu erwarten, daß die resorptive Wirkung des N vermindert, diejenige des S dagegen gesteigert wird. Letzteres wird um so mehr in Erscheinung treten, als zu der Giftigkeitssteigerung des S infolge der Resorptionsbeschleunigung noch die Sensibilisierung des Organismus für das vermehrt resorbierte S durch das gleichzeitig resorbierte N hinzukommt. Für den Endeffekt wird also ausschlaggebend sein, welcher von den beiden Faktoren den größeren Einfluß hat: die Steigerung der S-Toxizität oder die Verminderung der N-Resorption.

Es wird infolgedessen auch nicht gleichgültig sein, in welchem Verhältnis die Konzentrationen von N und S zueinander stehen. Je kleiner dieses Verhältnis von N-Konzentration zu S-Konzentration ist, desto stärker wird die Hemmung der Resorption sein, desto mehr wird aber auch die Toxizität des S in Erscheinung treten. Das Verhältnis N/S wird daher ein Optimum aufweisen, d. h. der S-Zusatz wird sich mit der N-Konzentration ändern müssen, um die beste Anästhesie bei geringster Toxizität zu erhalten. Dies hat bereits von Braun[1] in seiner klassischen Arbeit richtig erkannt, indem er schreibt:

„Der Adrenalingehalt der Lösungen soll kein gleichmäßiger sein. Beabsichtigen wir z. B., 1%ige Cocain-Lösung in geringer Menge, deren intensive Fernwirkungen ausgenutzt werden sollen, zu injizieren, so geben wir auf 1 ccm der Cocainlösung 3 Tropfen Adrenalinlösung. In dem Gemisch ist dann, 30 Tropfen auf 1 ccm gerechnet, das Adrenalin ungefähr in einer Konzentration von 1 : 10000 enthalten. Beabsichtigen wir dagegen, 0,1—0,5%ige Cocainlösungen in größerer Menge (10 bis 15 ccm je nach der Cocainkonzentration) zu injizieren, so geben wir auf 5—10 ccm Cocainlösung auch nur 3 Tropfen, auf 50 ccm 0,5 ccm mit der Pravaz-Spritze abzu-

messende Adrenalinlösung hinzu. Im letzteren Falle würde das Adrenalin in der Lösung in Konzentration von 1 : 100000 enthalten sein."

Das Verhältnis von Cocain zu S beträgt daher nach diesen ersten Angaben von Brauns für die 1%ige Cocainlösung 100 : 1 und für die 0,1%ige Cocainlösung ebenfalls 100 : 1. Auch für die üblichen N.S.-Lösungen ist das Verhältnis N/S, wie es sich für die Praxis der L.A. empirisch als am besten erwiesen hat, für die verschiedenen Konzentrationen ziemlich konstant. Für die N-Lösung 1 : 200 wird an S-Zusatz 1 : 200000 (N : S = 1000), für die N-Lösung 1 : 25 ein solcher von 1 : 20000 (N : S = 800) verwendet. Dieses Verhältnis, zu dessen Ermittlung zunächst die klinischen Bedürfnisse bezüglich Anästhesie und Anämie leitend waren, liegt in derselben Größenordnung, die sich auch, wie die vorliegenden Versuche und vor allem die im folgenden Absatz besprochenen Resultate von Pulewka[4] ergeben, bezüglich der Resorptionsverminderung als günstig erwiesen haben.

Für das Meerschweinchen haben die oben wiedergegebenen Versuche eindeutig gezeigt, daß durch den Zusatz von S die resorptive Wirkung des N beträchtlich herabgesetzt wird. Dieses Resultat scheint nun den Ergebnissen von Oelkers[3] an der weißen Maus zu widersprechen. Eine Erklärung für diese Diskrepanz vermögen aber vielleicht die Versuche von Pulewka und Mitarbeitern[4, 5, 6] zu geben. Diese Autoren benutzten als Versuchstier ebenfalls die weiße Maus, arbeiteten aber mit einer Methode, die es gestattet, die resorptive Wirkung auch von solchen Dosen zu studieren, die weit unter der toxischen Grenze liegen. Sie benutzten nämlich als Maß der resorptiven Wirkung die durch die L.A. bewirkte Pupillenerweiterung. Diese Methode hat den großen Vorteil, daß infolge der geringeren Gesamtdosis auch mit verdünnteren N-Lösungen gearbeitet werden kann, ohne übermäßig große Flüssigkeitsmengen auf einmal injizieren zu müssen. Diese Autoren fanden nun in Übereinstimmung mit unseren Meerschweinchenversuchen, daß im allgemeinen S-Zusatz die resorptive N-Wirkung vermindert und daß die optimale S-Menge von der N-Konzentration abhängig ist. Bei höher konzentrierten N-Lösungen konnten die Autoren bei Überschreitung einer gewissen Größe des S-Zusatzes dagegen eine Wirkung auf die Pupillen feststellen, die über die Wirkung der entsprechenden N-Lösungen allein hinausgeht. Die N-Konzentration (4%), die von Oelkers in seinen Versuchen angewandt wurde, fällt nun in den Bereich, in dem auch Pulewka und Mitarbeiter eine erhöhte resorptive Wirkung feststellen konnten.

Wie schon oben auseinandergesetzt, dürfte es sich dabei jedoch nicht um eine Steigerung der N-Wirkung durch das S handeln, sondern umgekehrt. Die Methode, die Pupillenerweiterung als Maß für die resorptive Wirkung der L.A. zu nehmen, hat nämlich neben ihren unbestreitbaren Vorteilen den Nachteil, daß auch das S auf resorptivem Wege die gleiche Wirkung hat. Wenn auch nach Pulewka die Pupillenerweiterung bei

niedrigen Dosierungen von S allein wegen der Selbstsperre der Resorption nicht in Erscheinung tritt, so gilt dies sicher nicht mehr für Kombinationen mit größeren N-Konzentrationen. In diesem Falle wird durch das N die Gefäßsperre durch und für das S zum Teil durchbrochen, eine Möglichkeit, die bereits Gramm[6] erörtert.

Daß an Meerschweinchen in den vorliegenden Versuchen auch bei höheren N-Konzentrationen eine eindeutige Minderung der resorptiven Wirkung durch S-Zusatz gefunden wurde, dürfte in Unterschieden der lokalen Resorptionsbedingungen zwischen Maus und Meerschweinchen seine Ursache haben.

Für den in Bestätigung früherer Versuche und in Übereinstimmung mit Oelkers und Pulewka gefundenen, noch viel günstigeren Einfluß des S-Zusatzes auf die Toxizität des Pantocain, dürften folgende Erwägungen eine Erklärung geben:

Infolge der vielfach höheren Wirksamkeit und Toxizität des Pantocain und der dadurch möglichen Verwendung geringerer Konzentrationen kann das Verhältnis von Pantocainkonzentration zu S-Konzentration wesentlich herabgesetzt werden, ohne die verträgliche S-Gesamtdosis zu überschreiten. Während bei den NS-Kombinationen das Verhältnis N/S sein Optimum bei etwa 1000 hat, kann beim Pantocain das Verhältnis P/S ohne weiteres bis auf 80 herabgesetzt werden (Tabelle IV). Dazu kommt als weiterer begünstigender Faktor, daß der Antagonismus von P gegen S an den peripheren Gefäßen geringer ist als der von N gegen S (Fussgänger und Schaumann[2], Klenke[10]).

Für die klinische Praxis ergibt sich aus den hier besprochenen Versuchen, daß der S-Zusatz sich nach der jeweils verwendeten N-Konzentration zu richten hat. Diese Forderung hat bereits von Braun[1] in seiner ersten Mitteilung über die Kombination von Cocain mit S richtig erkannt; sie wird von den in der Praxis üblichen Lösungen und den meisten Handelspräparaten weitgehend erfüllt. Von Bedeutung ist vielleicht noch der Einfluß, den N-Konzentrationen über 2% unter gewissen Umständen auf die S-Resorption haben. Wenn diese Lösungen auch stets nur in eng begrenzten Gebieten und in geringer Menge angewandt werden, und wenn auch die verabreichten Gesamtmengen von N und S geringer sind als z. B. bei der Infiltration mit großen Mengen verdünnter NS-Lösung, so ist bei ihnen doch eher mit Nebenwirkungen zwar nicht von seiten des N, sondern von seiten des S infolge seiner schnelleren Resorption zu rechnen. Die praktische Erfahrung zeigt ja auch, daß gerade in der Zahnheilkunde, wo vor allem in großem Ausmaße 2—4%ige N-Lösungen angewandt werden, am häufigsten solche an sich harmlose Symptome einer vermehrten S-Resorption zur Beobachtung kommen.

---

[10] Klenke, J.: Inaug. Diss. Marburg 1931.

Von besonderer Bedeutung für die Praxis ist die starke Verminderung der Pantocainresorption durch S-Zusatz. Pantocain sollte daher mit Ausnahme solcher Anwendungsweisen, bei denen eine Resorption von vornherein nur in geringem Ausmaße zu erwarten ist (Cornea-Anästhesie, Lumbal-Anästhesie) stets nur in Kombination mit entsprechenden Suprareninmengen Verwendung finden.

Zum Schluß soll noch kurz die Frage gestreift werden, ob für die Vertiefung und Verlängerung der Anästhesie durch Zusatz von S die Resorptionssperre und das Festhalten des Anaestheticums am Injektionsort allein verantwortlich ist, oder ob noch eine spezifische Wirkung des S auf den sensiblen Nerven hinzukommt, indem es gewissermaßen als Beize das L.A. am Nerven haftfester macht, wie dies Rentz[11] annimmt. Gegen die letztere Annahme würden folgende Gründe sprechen:

1. Eine Verlängerung und Vertiefung der Anästhesie wird nicht nur durch S- und verwandte Verbindungen, sondern auch durch Hypophysenhinterlappenextrakte (Hypophysin und Tonephin) bewirkt, deren kapillarverengender Wirkstoff keinerlei Verwandtschaft mit der S-Gruppe aufweist.

2. In wenig durchbluteten Gebieten mit geringer Resorptionskraft hat der S-Zusatz keinen ausschlaggebenden Einfluß auf die Qualitäten der L.A. Dies ist z. B. an der Cornea der Fall und ebenso bei der L.A. Gerade in letzterem Falle müßte sich eine spezifische Wirkung des S auf die Nervensubstanz ganz besonders auswirken.

Zusammenfassung.

1. In ausgedehnten Versuchen an Meerschweinchen wird die Frage, ob durch Suprareninzusatz die resorptiven Wirkungen des Novocains vermindert werden, in bejahendem Sinne entschieden.

2. Das gleiche Resultat ergab sich bei Verwendung von Corbasil in entsprechender Dosierung.

3. In noch stärkerem Maße wird durch Suprareninzusatz die Giftigkeit von Pantocainlösungen herabgesetzt.

4. Die Versuchsresultate werden mit den Befunden anderer Autoren in Beziehung gebracht und ausführlich besprochen, wobei besonders auf die wechselseitige Beeinflussung von Resorption und resorptiver Wirkung der Lokalanaesthetica einerseits und des Suprarenins andererseits eingegangen wird.

---

[11] Rentz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 311 (1929).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.

Zur Wirkungsweise der Anthelminthica.

Von

H.-A. Oelkers und **W. Rathje.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. August 1941.)

Für eine sichere Beurteilung des therapeutischen Wertes von Wurmmitteln ist nach dem heutigen Stand der Erfahrungen in erster Linie der Ausfall von Heilversuchen an wurmkranken Menschen und Tieren maßgebend. Um eine sichere Grundlage für derartige Untersuchungen zu erhalten, ist es jedoch zweckmäßig, zunächst durch Versuche in vitro Anhaltspunkte für die Stärke der Wirksamkeit von Wurmmitteln und somit ihre therapeutische Eignung zu gewinnen. In vielen Fällen werden die so gewonnenen Ergebnisse wertvolle Grundlagen bzw. Ergänzungen der im Heilversuch an Mensch oder Tier erhobenen Befunde darstellen. Ferner ist es unzweckmäßig, umfangreiche Heilversuche an wurmkranken Tieren mit Mitteln anzustellen, über deren Wirkung auf Würmer man nichts Genaueres weiß. Heilversuche an Menschen verbieten sich darüber hinaus, ehe man nicht im Tierversuch genaue Kenntnisse über die zu erwartenden Nebenwirkungen der betreffenden Mittel gesammelt hat.

Aus diesen Überlegungen heraus wurden die nachstehend geschilderten Untersuchungen vorgenommen, bei denen zunächst die Wirkung zahlreicher, mehr oder weniger gebräuchlicher, z. T. aber erst wenig erforschter Wurmmittel auf verschiedene Wurmarten und auf Wurmmuskel-Präparate in vitro miteinander verglichen und außerdem die Giftigkeit der Mittel an der weißen Maus bei oraler Verabfolgung festgestellt wurde.

Die Prüfung der verschiedenen Mittel auf ihre Giftigkeit für Würmer erfolgte in allen Fällen zunächst an Enchytraeiden (Enchytraeus albus), die sich recht gut für derartig orientierende Versuche eignen (vgl. Jores und Wolter[1]). Bei diesen Untersuchungen wurden von allen Stoffen die kleinsten Dosen festgestellt, die, in Kaltblüter-Ringerlösung gelöst oder emulgiert, völlige Lähmung der eingebrachten Würmer innerhalb von $1^1/_2$—2 bzw. innerhalb von 24 Stunden bewirkten. Die Würmer wurden nach eingetretener Lähmung (d. h. nach 2 bzw. 24 Stunden) in frische Ringerlösung gebracht. Sodann wurde festgestellt, ob in den folgenden Stunden vorübergehende oder gänzliche Erholung erfolgte. Die Untersuchungen, deren hauptsächlichste Ergebnisse die Tabelle 1 zeigt, wurden im übrigen nach den früher mitgeteilten Vorschriften[2] durchgeführt.

[1] Jores, A., u. H. Wolter: Klin. Wschr. **1939**, S. 885. — [2] Oelkers, H.-A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 315 (1940).

Tabelle 1. Giftigkeit für Enchytraeiden.

Mittel	Lähmung innerhalb von		Mittel	Lähmung innerhalb von	
	$1^1/_2$—2 Std. mg%	24 Std. mg%		$1^1/_2$—2 Std. mg%	24 Std. mg%
Filmaron	2 0	1,5	Ol. Tanaceti	20,0*	15,0*
Pelletierinsulfat	> 100,0	> 100,0*	Ol. Terebinthinae	5,0*	2,5*
Santonin	> 20,0	> 20,0	Pyrethrum	10,0	4,0
Ol. Chenopodii	10,0*	4,0*	Rotenon	> 5,0	0,2
Ascaridol	5,0*	2,0*	Helminal	> 250,0	> 250,0
p-Cymol	7,0*	4,0*	Acranil	150,0	50,0
Thymol	4,0	2,0	Dysentulin	100,0	50,0
Chlorthymol	0,75	0,4	Tetrachlor-kohlenstoff	15,0*	12,0
Chlorcarvacrol	1,5	0,4	Tetrachloräthylen	5,0*	4,0
Naphthalin	5,0	6,0	Chloroform	25,0*	20,0
β-Naphthol	4,0	2,5	Kupfersulfat	7,0	5,0
Hexylresorcin	0,8	0,5	Cadmiumsulfat	10,0	1,0
Lubisan	30,0*	5,0*	Aluminiumsulfat	12,0	4,0
Menthol	15,0	10,0	Zinnchlorür	8,0	5,0
Kreosot	25,0*	15,0*			
Ol. Ecalypti	20,0*	18,0*			

* emm.

Die Tabelle zeigt, daß in ganz guter Übereinstimmung mit den praktischen Erfahrungen von den bekannten Wurmmitteln Filmaron, Ascaridol, Thymol, Naphthalin und β-Naphthol eine verhältnismäßig hohe Giftigkeit auch für Enchytraeiden besitzen. Die wirksamen Dosen dieser Mittel unterscheiden sich nur wenig voneinander. Bei allen diesen Mitteln begann ferner die Wirkung mit Erregungserscheinungen, denen nach einiger Zeit zunehmende Lähmung folgte. Wurden die Würmer bald nach der eingetretenen Lähmung in frische Ringerlösung gebracht, so trat ziemlich rasch Erholung ein. Nur die mit Filmaron behandelten Tiere erholten sich meist nicht mehr.

Von den geprüften chlorierten Methanderivaten, Tetrachlorkohlenstoff, Tetrachloräthylen und Chloroform erwies sich Tetrachloräthylen als am giftigsten. Bei allen drei Mitteln hielt der anfängliche Erregungszustand nur verhältnismäßig kurze Zeit an und es bildete sich, sofern die angewandten Konzentrationen überhaupt wirksam waren, rasch (innerhalb von 15—30 Minuten) vollständige Lähmung aus. Schwächere Konzentrationen blieben auch nach sehr langer Einwirkungszeit bis auf leichte Lähmungserscheinungen wirkungslos. Wurden die Würmer bald nach eingetretener Lähmung in frische Ringerlösung gebracht, so trat rasch vollständige Erholung ein.

Die Untersuchung des Santonins ergab eigenartigerweise, daß mit diesem früher viel gebrauchten und anscheinend auch recht wirksamen Anthelminthicum nur eine verhältnismäßig geringe Schädigung der Enchytraeiden zu erreichen ist. Selbst in gesättigten Lösungen (etwa 20 mg%ig) lebten die Würmer tagelang. Auch die dem Santonin zugeschriebene

erregende Wirkung trat bei den Versuchen nicht besonders stark in Erscheinung.

Dies war dagegen sehr ausgesprochen der Fall bei den Versuchen mit Digenea simplex (Helminal). Bestimmte Mengen der im Mörser zerkleinerten Droge wurden bei diesen Versuchen mit Ringerlösung übergossen und das Gemisch 2—4 Stunden bei Zimmertemperatur unter häufigem Umrühren stehengelassen. Das hiervon gewonnene Filtrat wurde für die Versuche benutzt. Erregungserscheinungen traten an den Enchytraeiden bereits in den mit 10 mg Droge und 100 ccm Ringerlösung hergestellten Zubereitungen auf. Höhere Konzentrationen wirkten stärker, doch erfolgte eine ernstliche Schädigung der Würmer auch nach tagelangem Aufenthalt in hochkonzentrierten Aufgüssen nicht.

Pelletierin, das die wurmwidrige Wirkung vom Cortex Granati bedingen soll, war in der Form des von der Fa. Merck bezogenen Sulfats, dessen Wasserlöslichkeit gut ist, bis herauf zu einer Konzentration von 100 mg% wirkungslos. Die Enchytraeiden waren in dieser Lösung anfänglich etwas lebhafter, später vielleicht etwas ruhiger als in reiner Ringerlösung.

Pelletierinum tannicum (Merck) zeigte in Konzentrationen von 1—40 mg% eine sehr schwache erregende Wirkung und vermochte die Tiere innerhalb von 48 Stunden nicht ernstlich zu schädigen.

Unter den verschiedenen zur Bekämpfung von Eingeweidewürmern gelegentlich empfohlenen aromatischen Verbindungen zeichneten sich Chlorthymol, Chlorcarvacrol und Hexylresorcin durch eine verhältnismäßig hohe Giftigkeit für Enchytraeiden aus. Das seit einiger Zeit im Handel befindliche Lubisan (Resorcinmonobutylätherdiäthylcarbamat) schädigte die Würmer dagegen erst in relativ hohen Konzentrationen. In Ringerlösung gebracht, erholten sich die Tiere verhältnismäßig rasch.

Verdünnungen eines Pyrethrumsols (Chem. Fabr. Promonta) erwiesen sich als noch etwas wirksamer, als es nach der Mitteilung von Jores und Wolter[1] erwartet werden konnte. Jores und Wolter bestimmten allerdings bei ihren Versuchen die Konzentration, die innerhalb einer Stunde tödlich wirkt, und geben diese mit 0,2% an. Bei den eigenen Versuchen trat Lähmung der Enchytraeiden innerhalb von 2 Stunden bei einer Konzentration von 12 mg% und innerhalb von 24 Stunden bei einer Konzentration von 4 mg% ein. Die Tiere zeigten sich kurz nach dem Einbringen in die Pyrethrum enthaltende Ringerlösung stark erregt.

Rotenon, das aus der Wurzel von Derris eliptica gewonnen wird, gilt als sehr wirksames Insecticidum. Bekannt ist ferner seine hohe Giftigkeit für Fische. Nach Versuchen von Jänel[3] soll Rotenon sich bei Hunden und Pferden als Anthelminthicum bewährt haben.

[3] Jänel, H.: Diss. Berlin 1936.

Die Versuche an Enchytraeiden wurden durch die nahezu völlige Unlöslichkeit des Rotenons in Wasser erschwert. Immerhin gelang es, durch Auflösen einiger Milligramme Rotenon in wenig Alkohol und rasche Zugabe von Kaltblüter-Ringerlösung unter gleichzeitigem starken Umrühren Suspensionen bis zu einer Konzentration von 3 mg% herzustellen, die sich einige Zeit hielten, die aber innerhalb von 2 Stunden bis auf eine gewisse Erregung keine Giftwirkungen auf die Würmer erkennen ließen. Bei langfristigen Versuchen erwies sich allerdings Rotenon auch für Enchytraeiden als recht giftig, da noch eine Konzentration von 0,2 mg% innerhalb von 24 Stunden letal wirkte.

Nur schwach wirksam waren Oleum Tanaceti und Oleum Eucalypti, während Oleum Terebinthinae rectific. sich als verhältnismäßig giftig für die Würmer erwies.

Der Acridinfarbstoff Acranil (Bayer), der gegen Bandwürmer wirksam sein soll (v. d. Trappen[4]), war für Enchytraeiden nur wenig giftig. Etwas stärker wirkte Dysentulin (Jodoxychinolinsulfosäure).

Unter den geprüften Metallsalzen zeigten Sublimat, Kupfersulfat, Kadmiumsulfat und Zinnchlorür eine verhältnismäßig starke Wirkung (die eingetretene Lähmung bildete sich nicht wieder zurück), während Aluminiumchlorid, Natriumantimonyltartrat und einige andere in der Tabelle nicht mitaufgeführte Metallsalze sowie Salze verschiedener seltener Erden verhältnismäßig ungiftig waren.

Weitere Versuche wurden an Schweineascariden (Ascaris lumbricoides) durchgeführt, die sich nach unseren Erfahrungen besser als Pferdespulwürmer längere Zeit (7—10 Tage) in Ringerlösung bei 37° am Leben erhalten lassen. Sie sind nach unseren Beobachtungen gegen die Wirkung von Anthelminthicis meist etwas empfindlicher als Pferdeascariden.

Soweit die zu prüfenden Mittel sich nicht ohne weiteres in Ringerlösung lösten, wurden sie zunächst in einer kleinen Menge (1,0—2,0 ccm) abs. Alkohol gelöst und dieser Lösung dann im Meßzylinder mit eingeschliffenem Stopfen unter kräftigem Umschütteln eine abgemessene Menge Ringerlösung (im allgemeinen 300 ccm) von 37° zugesetzt. Anschließend wurden sofort 3—4 Ascariden in den betreffenden Meßzylinder eingesetzt und dieser im Brutschrank aufbewahrt. In einigen Fällen besonders schlechter Wasserlöslichkeit und schlechter Emulgierbarkeit (Chlorthymol, Naphthalin u. a.) wurden die betreffenden Substanzen zunächst mit einer kleinen Menge (5 ccm) Mucilago Gummi arabici verrieben. Durch allmähliches Zugeben der Ringerlösung ließen sich dann recht haltbare Suspensionen herstellen.

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Versuche gehen aus der Tabelle 2 hervor. Hiernach ist Filmaron für Schweineascariden verhältnismäßig ungiftig. Es wirkt jedoch in den angewandten hohen Konzentrationen

[4] v. d. Trappen, P.: Ther. Gegenw. **81**, 501 (1940).

Tabelle 2. Giftigkeit für Ascariden.

Mittel	Lähmung innerhalb von		Mittel	Lähmung innerhalb von	
	$1^1/_2$–2 Std. mg%	24 Std. mg%		$1^1/_2$–2 Std. mg%	24 Std. mg%
Filmaron	50	20	Kreosot	50	20
Pelletierinsulfat	> 200*	> 200*	Ol. Eucalypti	50*	15*
Santonin	> 20	> 20	Ol. Tanaceti	50*	15*
Ol. Chenopodii	10*	5*	Ol. Terebinthinae	50*	12*
Ascaridol	4*	1*	Pyrethrum	200	200
p-Cymol	40*	25*	Rotenon	> 30	30
Thymol	12	6	Tetrachlor-kohlenstoff	80*	50*
Chlorthymol	10	3	Tetrachloräthylen	70*	40*
Chlorcarvacrol	8	4	Chloroform	100*	80*
Naphthalin	25	15	Kupfersulfat	200	50
β-Naphthol	40	30	Aluminiumchlorid	200	100
Hexylresorcin	12	5			
Lubisan	50*	50*			

* cmm.

ähnlich wie bei Enchytraeiden auch auf Ascariden zunächst ausgesprochen erregend. Später verhielten sich die Tiere zwar im ganzen ruhiger als die in reiner Ringerlösung befindlichen Kontrolltiere, doch führten sie von Zeit zu Zeit eigenartige, krampfähnliche Zuckungen aus.

Pelletierinsulfat erwies sich auch hier als praktisch wirkungslos.

Santonin führte in Konzentrationen von 10—20 mg% zunächst zu leichter bis mittelstarker Erregung der Tiere, die sich dann aber bereits etwa nach $^1/_2$—1 Stunde ruhiger als die Kontrolltiere verhielten und einen leicht gelähmten Eindruck machten. Doch trat auch nach einem Aufenthalt von 5 Tagen in einer 20 mg% Santonin enthaltenden Ringerlösung keine vollständige Lähmung ein, sondern die Tiere lebten genau so lange wie die Kontrolltiere (insgesamt 7—9 Tage) Diese Beobachtungen decken sich somit nur z T. mit den Angaben von Bachem [5], der feststellte, daß Ascariden durch Santonin rasch gelähmt werden. Bei unseren Versuchen war dies nur insofern der Fall, als die Tiere nach kurzem Aufenthalt in der gesättigten Santoninlösung auffällig träge und auch seltener Bewegungen ausführten als die Kontrollen. Diese Wirkung trat nur in hochkonzentrierten Santoninlösungen auf; in schwächeren ließ sich gewöhnlich nur eine deutliche, jedoch nicht sehr starke Erregung der Tiere, die mehrere Stunden anhielt, beobachten (vgl. auch v. Schroeder [6]).

Weit stärker war die durch verschiedene andere Mittel, insbesondere durch Chenopodiumöl oder seine beiden Bestandteile Ascaridol und p-Cymol, verursachte Erregung der Ascariden. Auch hier trat je nach der angewandten Konzentration der Mittel nach verschieden langer Zeit Lähmung der Ascariden ein, von der sich die Tiere zu erholen pflegten.

[5] Bachem, C.: Z. exper. Med. **44**, 656 (1925). — [6] Schroeder, W. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **19**, 290 (1885).

wenn sie nach nicht zu langer Zeit wieder in reine Ringerlösung gebracht wurden.

Interessant ist die verhältnismäßig hohe Giftigkeit des Ascaridols für den Schweinespulwurm, der durch etwa die gleiche Konzentration gelähmt bzw. getötet wurde wie Enchytraeiden. Die meisten anderen Mittel waren dagegen für Acsariden erheblich weniger giftig als für Enchytraeiden.

Dies gilt z. B. auch für p-Cymol, den zweiten wurmwirksamen Bestandteil des Chenopodiumöls, das im Gegensatz zu den Beobachtungen an Ascaris megalocephala [2] für Ascaris lumbricoides deutlich weniger giftig ist als Ascaridol. Die erregende Wirkung des p-Cymols ist auch bei diesem Wurm sehr stark. Die Versuche verliefen nicht ganz einheitlich, was daran liegen dürfte, daß sich p-Cymol in höheren Konzentrationen verhältnismäßig schlecht in Wasser emulgieren läßt.

Von den anderen untersuchten Mitteln zeigten Thymol und Hexylresorcin, besonders aber Chlorthymol und Chlorcarvacrol eine verhältnismäßig große Giftigkeit für Ascariden. Auch diese Stoffe bewirkten zunächst Erregung und später Lähmung. Schwächere Konzentrationen führten einen tagelang anhaltenden Erregungszustand herbei.

Lubisan verursachte auch in hoher Konzentration, die tagelang vertragen wurde, nur einen leichten Erregungszustand.

Pyrethrum und ebenso Rotenon hatten bereits in verhältnismäßig schwachen Konzentrationen einen starken Erregungszustand bei den Ascariden zur Folge. Abtötung ließ sich aber auch durch sehr hohe Konzentrationen nicht erzielen.

Tetrachlorkohlenstoff, Tetrachloräthylen und Chloroform führten in den angegebenen Konzentrationen zunächst zu leichter Erregung der Tiere, die bald nachließ und in zunehmende Lähmung überging. Auch nach eingetretener vollständiger Bewegungslosigkeit erholten sich die Ascariden wieder, wenn sie nach nicht zu langer Zeit in frische Ringerlösung gebracht wurden.

Die Wirkung von Kupfersulfat, Aluminiumchlorid und einigen anderen, in der Tabelle nicht mit aufgeführten Metallsalzen auf die Ascariden war gering (auch wenn die Ringerlösung zur Vermeidung des Ausfallens der Metalle bicarbonatfrei war). Eine Schädigung der Ascariden trat erst bei Konzentrationen ein, die sich im Darm von Wurmträgern nicht ohne weiteres erzielen lassen.

II.

Seit den Untersuchungen von Trendelenburg [7] wird als ein Charakteristikum von Wurmmitteln, zumindest von Santonin und Chenopodiumöl, eine spezifisch erregende Wirkung auf die Wurmmuskulatur angenommen. Eine derartige Wirkung läßt sich am nervenfreien Regenwurm- oder

[7] Trendelenburg, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 190 (1916).

Blutegelmuskelpräparat verhältnismäßig leicht feststellen. Daneben aber kommen den Anthelminthicis auch erregende und z. T. auch lähmende Wirkungen auf das Nervensystem der Würmer zu. Eine Möglichkeit, auch diese Eigenschaften von Wurmmitteln zu messen, bietet das von v. Brücke und Sarkander[9] beschriebene Nerv-Muskel-Präparat des Blutegels.

Ergänzend wurde daher die Wirkung der in der Tabelle 1 und 2 aufgeführten Präparate auf Nerv-Muskelpräparate und reine Muskelpräparate vom Blutegel und Regenwurm geprüft, um festzustellen, ob das Auftreten erregender Wirkung tatsächlich charakteristisch für diese Mittel ist und der Stärke der am lebenden Wurm gefundenen schädigenden Wirksamkeit einigermaßen parallel geht.

Die Herstellung der Präparate erfolgte nach den von Trendelenburg[7], Führer[8] und v. Brücke und Sarkander[9] gemachten Angaben. Der Zusatz der verschiedenen Mittel, die ja nur zum kleinen Teil in Wasser löslich sind, erfolgte wie früher[2] beschrieben. Bei der Herstellung von Emulsionen muß jedoch darauf geachtet werden, daß der Alkoholgehalt des fertigen Versuchsansatzes 1% nicht überschreitet, denn bei gemeinsam mit Steinbach[10] durchgeführten Versuchen zeigte sich, daß die erregenden Wirkungen von Santonin und Thymol sowohl am ganglienfreien Muskelpräparat vom Regenwurm und Blutegel als auch am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels durch höhere Alkoholkonzentrationen (oberhalb 2—3%) gehemmt bzw. aufgehoben werden.

Zu den Versuchen am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels ist zu sagen, daß sie durch die in ihrer Intensität oft stark wechselnden spontanen Kontraktionen der Präparate erschwert werden. Während das reine Muskelpräparat des Blutegels nach Führer keine Spontanbewegungen zeigt, führt nämlich das Nerv-Muskelpräparat bereits in reiner Kaltblüter-Ringerlösung meist ziemlich lebhafte Kontraktionen aus. Im allgemeinen ist dies zwar nur kurz nach der Einbringung in Ringerlösung der Fall; nach etwa $^1/_2$—1 Stunde zeigen die Präparate gewöhnlich nur noch verhältnismäßig schwache und in größeren Zwischenräumen erfolgende Spontanbewegungen. Nicht selten aber wechseln Perioden heftiger Kontraktionstätigkeit mit Zeiten völliger oder fast völliger Ruhe in mehr oder minder gleichmäßigen Intervallen ab. Ferner kommen gelegentlich erhebliche spontane Tonusschwankungen vor.

Die Präparate verhalten sich mithin ziemlich unberechenbar, und es ist oft unmöglich, zwischen der Wirkung eines zur Ringerlösung zugesetzten Medikamentes und einer spontanen Änderung von Tonus und Kontraktionstätigkeit zu unterscheiden. Der Wert des Präparates wird durch diese Schwierigkeit, die man nur durch Anstellen zahlreicher Parallelversuche bis zu einem gewissen Grade umgehen kann, etwas eingeschränkt.

---

[8] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1917). — [9] Brücke, Fr. Th. v., u. H. Sarkander: Ebenda **195**, 79 (1940). — [10] Steinbach, H.: Dissertation Hamburg 1941.

Ein Muskelpräparat des Regenwurms hat vor den vom Blutegel hergestellten den Vorteil der leichteren und schnelleren Ansprechbarkeit auf die meisten Wurmmittel. Bei Verwendung schwacher Konzentrationen, z. B. von Ascaridol, Thymol und Santonin vergehen nämlich oft mehrere Stunden, ehe am entnervten Blutegelmuskel eine deutliche Wirkung zu erkennen ist (vgl. Oelkers[11]).

Das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels pflegt dagegen ebenso wie das nervenfreie Regenwurmmuskelpräparat sofort oder doch innerhalb weniger Minuten auf den Zusatz eines wirksamen Mittels zu reagieren. Das Muskelpräparat des Regenwurms hat jedoch den unbestreitbaren Nachteil, daß auch bei ihm spontane Kontraktionen auftreten[12], die sogar nach längerer Zeit oft sehr kräftig und lebhaft werden und erregende

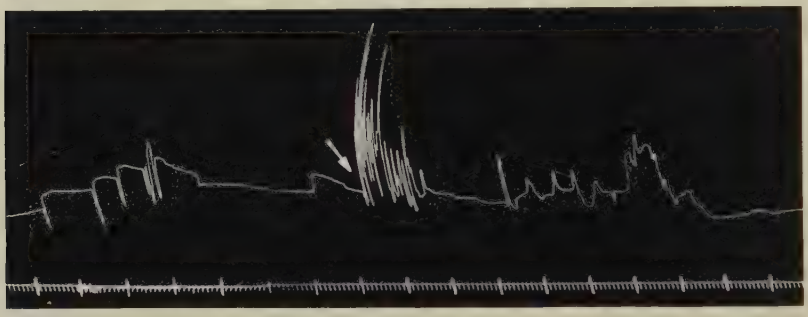


Abb. 1. Innerviertes Blutegelmuskelstück, bei ▼ Filmaron. Zeitmarkierung 1 und 10 Min.

Wirkung eines Zusatzes vortäuschen können. Immerhin ist aber hier doch die Beurteilung der Versuche leichter als bei dem Nerv-Muskelpräparat des Blutegels.

Am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels wirkte Filmaron in Konzentrationen oberhalb 1,5—2 mg% meist deutlich erregend. Dieser Befund war besonders überraschend, da seit den Untersuchungen von Straub[13] den Filixsubstanzen eine vorwiegend lähmende Wirkung auf Muskeln und Nervensystem der Würmer zugeschrieben wird. Indessen sprechen auch die bereits erwähnten Befunde an Enchytraeiden und Ascariden in vitro dafür, daß Filmaron zunächst erregend auf Würmer wirkt. Später treten dann Lähmung und Tod der Tiere ein.

Die Abb. 1 zeigt einen Versuch an einem Nerv-Muskelpräparat, das längere Zeit nur geringe Spontanbewegungen ausgeführt hatte und bei dem auf den Zusatz einer Filmaronemulsion (Gehalt der Badflüssigkeit 1,9 mg% Filmaron) für etwa $^1/_4$ Stunde kräftige Kontraktionen auftraten. Danach zeigte das Präparat eine nur wenig stärkere Tätigkeit als vor dem Filmaron-

[11] Oelkers, H.-A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 161 (1940). — [12] Straub, W.: Pflügers Arch. **79**, 379 (1900). — [13] Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **48**, 1 (1902).

zusatz. Eine Lähmung des Präparates konnte während der folgenden 2 Stunden nicht beobachtet werden.

Hohe Filmaronkonzentrationen wirkten jedoch nach vorangehender kurzer Erregung lähmend und – wie weitere Versuche zeigten – schließlich auch abtötend auf das Nerv-Muskelpräparat. So zeigt die Abb. 2 einen Versuch, bei dem die anfänglich lebhaften Kontraktionen des Präparates nach etwa 45 Minuten ganz aufhörten. Nach 30 Minuten vollständiger Bewegungslosigkeit wurde die normale Kaltblüter-Ringerlösung durch eine andere ersetzt, die Filmaron in einer Konzentration von 30 mg% emulgiert enthielt. Die daraufhin einsetzende starke Erregung des Präparates ließ unter leichtem Absinken des Tonus allmählich nach, so daß etwa 40 Minuten nach dem Beginn der Filmaron-Einwirkung vollständige Bewegungslosigkeit eintrat. Ersatz der Filmaron enthaltenden Ringerlösung durch eine zusatzlose änderte hieran nichts; während der folgenden 4 Stunden wurden keine Kontraktionen mehr ausgeführt und ließen sich auch durch Zusatz von Santonin nicht hervorrufen.

Abb. 2. Innerviertes Blutegelmuskelstück, bei ▼ Filmaron, Zeitmarkierung 1 und 10 Minuten.

Die erregende Wirkung des Filmarons trat nicht in allen Versuchen mit gleicher Deutlichkeit auf, und es war mitunter schwer, sie von den erwähnten spontan auftretenden Bewegungsänderungen zu unterscheiden.

Am nervenfreien Muskelpräparat des Blutegels konnten durch Filmaron keine rhythmischen Bewegungen ausgelöst werden. In Konzentrationen oberhalb 3 mg% fand sich gewöhnlich zunächst eine leichte Tonuszunahme und nach längerer Zeit eine stärkere Erschlaffung des Muskels. Höhere Filmaron-Konzentrationen wirkten ähnlich oder führten sogleich zu stärkerem Sinken des Muskeltonus.

Ähnlich wie der Blutegelmuskel reagierte auch ein Teil der Muskelpräparate vom Regenwurm. Der größere Teil dieser Präparate zeigte jedoch nach Filmaron (5 bis 10 mg%) vorübergehend mäßig starke rhythmische Kontraktionen (bzw. eine deutliche

Zunahme der bereits vorhandenen Kontraktionen). Ziemlich bald trat dann aber in jedem Falle unter mehr oder minder starkem Absinken des Tonus vollständige Bewegungslosigkeit ein.

In einigen Fällen wurde zu einem durch Santonin stark erregten Regenwurmmuskel-Präparat Filmaron (10 mg%) zugegeben. Hierbei konnte niemals eine weitere Steigerung der rhythmischen Kontraktionen beobachtet werden. Diese nahmen vielmehr in allen Fällen rasch ab, und es trat nach verhältnismäßig kurzer Zeit völlige Bewegungslosigkeit ein. Auswaschen der Präparate mit Ringerlösung und Zusatz einer neuen Santoninlösung führten niemals zum Auftreten neuer rhythmischer Tätigkeit. In einigen Fällen, bei denen Filmaron nur kurz eingewirkt hatte, führte später Santonin zu einer mehr oder minder deutlichen Tonussteigerung (Kontraktur) des Präparates.

Die Versuche sprechen also dafür, daß Filmaron in geeigneten Dosen in erster Linie auf das Nervensystem der Würmer wirkt. Die Muskulatur wird nur schwach und für kurze Zeit erregt. Je nach der Filmaron-Konzentration tritt später sowohl an Nerv-Muskel- wie an Muskelpräparaten völlige und irreversible Lähmung der Präparate ein. Mit dieser Auffassung von der Filmaronwirkung stimmen auch die oben geschilderten Beobachtungen am ganzen Wurm gut überein, bei denen ebenfalls nach verschieden langer und starker Erregung Lähmung erfolgte, von der sich die Tiere in frischer Ringerlösung nicht wieder erholten. Filmaron unterscheidet sich hierdurch von den meisten anderen geprüften Mitteln.

Pelletierinsulfat wirkte auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels in Konzentrationen oberhalb 100 mg% schwach erregend. Die Wirkung war jedoch nicht in jedem Falle deutlich festzustellen. Das Muskelpräparat vom Blutegel ließ sich durch Pelletierinsulfat nicht beeinflussen; am Muskelpräparat vom Regenwurm fanden sich dagegen gewöhnlich leichte Tonussteigerung und (ab 75—100 mg%) meist auch geringe Zunahme der bereits normalerweise vorhandenen Kontraktionen.

Mit Santonin in einer Konzentration von 10 mg% wurde den Angaben von v. Brücke und Sarkander[9] entsprechend eine deutlich erregende Wirkung am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels festgestellt. Auch schwächere Konzentrationen wirkten noch erregend. Die unterste Grenze hierfür scheint nach den z. T. gemeinsam mit Beutin[14] durchgeführten Versuchen bei einer Konzentration von 2—5 mg% zu liegen.

Am nervenfreien Muskelpräparat des Blutegels ist die Santoninerregung verhältnismäßig schwer nachzuweisen; sie tritt selbst bei Konzentrationen von 20 mg% und mehr erst nach einer längeren Latenzzeit auf (vgl. Oelkers[2]). Am Regenwurmmuskelpräparat läßt sich dagegen die erregende Wirkung des Santonins in Konzentrationen oberhalb 5 mg% entsprechend den Angaben Trendelenburgs[7] gut demonstrieren. Auch

[14] Beutin, K.-F.: Dissertation Hamburg 1940.

schwächere Konzentrationen wirken deutlich erregend, wenn auch oft erst nach einer gewissen Latenzzeit. Die schwächste Konzentration, bei der noch eine Wirkung festzustellen war, betrug 0,2 –0,3 mg%.

Chenopodiumöl, Ascaridol und p-Cymol wirkten sowohl auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels als auch auf das reine Muskelpräparat vom Blutegel und Regenwurm deutlich erregend. Auf die nervenfreien Muskelpräparate wirkte p-Cymol am stärksten (vgl. Oelkers[2]). Die Wirkung begann am Muskelpräparat des Regenwurms bei Konzentrationen oberhalb 0,4 mg% und am Muskelpräparat des Blutegels bei etwa 2 mg%. Chenopodiumöl und Ascaridol wirkten am Regenwurmmuskel erst in Konzentrationen von 2 bzw. 3—4 mg% und am Blutegelmuskel in Konzentrationen von 8 bzw. 10 mg% an erregend.

Am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels war die Wirkung von Chenopodiumöl und Ascaridol ebenfalls etwas schwächer als die von p-Cymol. Alle drei Mittel wirkten hier in ähnlichen Konzentrationen erregend wie am nervenfreien Blutegelmuskel.

Im Gegensatz zum Santonin nahm bei diesen Verbindungen die erregende Wirkung mit steigenden Konzentrationen nur bis zu einem gewissen Optimum zu. Höhere Konzentrationen wirkten nach verhältnismäßig kurzdauernder, mäßig starker Erregung lähmend und schließlich abtötend auf die verschiedenen Präparate.

Thymol zeigte ähnlich wie Santonin am Muskelpräparat des Regenwurms bereits in sehr niedrigen Konzentrationen (etwa ab 0,05—0,1 mg%) eine erregende Wirkung. Am Blutegel-Muskelpräparat war die Thymolwirkung sogar ganz erheblich stärker als die des Santonins. Wie bereits früher mitgeteilt[2], beginnt hier die erregende Wirkung des Thymols bei Konzentrationen oberhalb 1 mg%. Hohe Thymolkonzentrationen (15 bis 40 mg%) führten nach kurzer Erregung zu völliger Lähmung des Präparates.

Das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels wurde ebenfalls durch niedrige Thymolkonzentrationen rasch in einen — allerdings nicht sehr starken — Erregungszustand versetzt, während hohe Konzentrationen zunächst schwach erregend und dann lähmend wirkten.

Chlortyhmol und Chlorcarvacrol wirkten ganz ähnlich wie Thymol bereits in verhältnismäßig schwachen Konzentrationen sowohl auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels wie auch auf die nervenfreien Muskelpräparate vom Regenwurm und Blutegel erregend. Die geringste Konzentration, die am Muskelpräparat des Blutegels nach längerer Zeit (etwa 3 Stunden) zu rhythmischen Erregungen führte, betrug für Chlorthymol 1 mg% und für Chlorcarvacrol 2,5 mg%. Bei der doppelten Konzentration trat die Wirkung bereits nach etwa einer Stunde auf. Das Maximum der Zuckungen wurde jedoch erst nach etwa 4 Stunden erreicht.

Am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels wirkte Chlorthymol etwa ab 0,5—1 mg% und Chlorcarvacrol ab 0,3 0.5 mg% erregend nach einer

Latenzzeit von 20—30 Minuten. Bei etwas höheren Konzentrationen pflegte die Erregung der Präparate rascher einzutreten, wobei oft stärkere Veränderungen des Tonus vorangingen.

Am Muskelpräparat des Regenwurms wirkten Chlorthymol und Chlorcarvacrol in Konzentrationen von etwa 0,2—0,3 mg% an nach einer Latenzzeit von etwa 1 Stunde erregend. Konzentrationen oberhalb 2 mg% wirkten sogleich erregend und tonussteigernd. Nach etwa 1 Stunde trat Lähmung ein.

Menthol wirkte nur auf das innervierte Muskelpräparat vom Blutegel und in Konzentrationen oberhalb 10 mg% schwach erregend. Der Regenwurmmuskel wurde durch Konzentrationen von 1 mg% an im lähmenden Sinne beeinflußt.

Naphthalin wirkte auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels sehr stark erregend. Bereits eine Konzentration von nur 1 mg% hatte eine sofort einsetzende kräftige Wirkung. Frequenz und Höhe der Kontraktionen nahmen nach $^1/_2$—1 Stunde allmählich ab, doch trat auch nach längerer Zeit keine vollständige Lähmung ein. Die kleinste erregend wirkende Konzentration scheint 0,1 mg% zu sein. Eine gesättigte Lösung bewirkte für etwa $1^1/_2$ Stunden sehr heftige und rasch aufeinanderfolgende Kontraktionen, die dann nachließen. Eine ausgesprochene Lähmung trat jedoch nicht ein.

Am Blutegelmuskelpräparat riefen Konzentrationen von 3—10 mg% Tonussenkung und nach längerer Zeit ($^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden) ziemlich frequente, aber kleine Kontraktionen hervor.

Das Muskelpräparat des Regenwurms erwies sich wieder als wesentlich empfindlicher: Hier genügten bereits Konzentrationen von 0,7—1 mg%, um innerhalb von 1—$1^1/_2$ Stunden eine deutliche Zunahme von Frequenz und Stärke der rhythmischen Kontraktionen zu bewirken. Höhere Konzentrationen (5—10 mg%) führten lediglich zu kräftigem Tonusanstieg.

β-Naphthol bewirkte am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels in Konzentrationen von 2—40 mg% zunehmend ein Absinken des Tonus. Eine erregende Wirkung ließ sich nicht sicher feststellen. Auch am reinen Muskelpräparat des Blutegels konnte durch β-Naphthol nur eine lähmende Wirkung auf den Tonus festgestellt werden, während am Muskelpräparat des Regenwurms in Konzentrationen von 3 mg% an zunächst Zunahme der rhythmischen Kontraktionen und später Lähmung, die leicht auswaschbar war, erhalten wurde.

Hexylresorcin wirkte am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels in Konzentrationen von 10 mg% an schwach erregend. Höhere Konzentrationen wirkten nur wenig stärker. Am Muskelpräparat des Blutegels konnte mit Hexylresorcin in Konzentrationen von 1—64 mg% außer einer Tonussteigerung keine Wirkung erzielt werden. Auch am Regenwurmmuskelpräparat fand sich bei Konzentrationen oberhalb 5 mg% eine Tonussteigerung. Die bereits normalerweise vorhandenen rhythmischen

Kontraktionen nahmen gleichzeitig mit dem Tonusanstieg ab und kehrten auch in reiner Ringerlösung nicht zurück. Auch Santoninzusatz konnte bei diesen Präparaten keine Erregung mehr auslösen. Hexylresorcin wirkt somit vorwiegend lähmend und verhältnismäßig rasch abtötend auf die genannten Präparate.

Ein ähnliches Ergebnis hatten die Versuche mit Lubisan (Resorcinmono-buthyläther-diäthylcarbamat), das zur Behandlung der Oxyuriasis empfohlen wird. In Konzentrationen von 1—100 mg% konnte am Muskelpräparat des Blutegels keinerlei Wirkung des Lubisans festgestellt werden. Am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels fand sich dagegen in Konzentrationen von 5—10 mg% gewöhnlich eine schwache erregende Wirkung. Auf das Muskelpräparat des Regenwurms wirkte Lubisan in Konzentrationen von 3—5 mg% an schwach erregend, indem ein Tonusanstieg und nach kurzer Zeit eine Zunahme der rhythmischen Bewegungen erfolgten. Höhere Konzentrationen wirkten stärker. Etwa ab 15—20 mg% trat nach kurzer Erregung irreversible Lähmung des Präparates ein.

Versuche mit einem 1%igen Pyrethrumsol, das von der chemischen Fabrik Promonta zur Verfügung gestellt wurde, ergaben am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels eine deutliche erregende Wirkung bei einem Pyrethrumgehalt der Ringerlösung von 50—250 mg%. Gleichzeitig nahm der Tonus der Präparate deutlich zu.

Am Muskelpräparat des Blutegels war durch Pyrethrum keine deutliche Wirkung zu erzielen, während am Regenwurmmuskelpräparat außer einer tonussteigernden Wirkung eine deutliche Zunahme der rhythmischen Kontraktionen bereits bei Konzentrationen von 5—10 mg% eintraten.

Die erregende Wirkung des Pyrethrums, die bei Konzentrationen oberhalb 10 mg% oft sehr stark war, ließ nach einiger Zeit nach, anschließend kam es unter leichtem Tonusabfall zu völligem Aufhören der Kontraktionen. Nach dem Auswechseln der Pyrethrum enthaltenden Ringerlösung durch zusatzlose kehrten jedoch die rhythmischen Kontraktionen (meist stärker als normal) wieder zurück.

Hohe Konzentrationen (100 mg%) bewirkten Kontraktur des Muskelstückes und fast völliges Aufhören aller Bewegungen. Auch diese Wirkung war noch nach längerer Zeit durch frische Ringerlösung auswaschbar.

Mit Rotenon, das sich, wie erwähnt, nach Versuchen von Jänel[3] in der Veterinärmedizin als Wurmmittel bewährte, konnte — vielleicht infolge der sehr geringen Wasserlöslichkeit — keine Wirkung auf die Muskelpräparate vom Regenwurm und Blutegel festgestellt werden. Am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels wirkten Rotenonemulsionen in einigen Fällen schwach erregend.

Oleum Eucalypti wirkte auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels in Konzentrationen von etwa 5—10 mg% an schwach erregend. Höhere Konzentrationen wirkten stärker, und meist fand sich außerdem eine Zunahme des Muskeltonus.

Das Blutegelmuskelpräparat sprach erst auf Konzentrationen oberhalb 30 mg% an, die nach kurzer Zeit langsam an Stärke und Häufigkeit zunehmende rhythmische Kontraktionen hervorriefen. Sehr viel leichter sprach auch bei diesen Versuchen das Regenwurmmuskelpräparat auf Eucalyptusöl an. Hier führte schon ein Gehalt der Ringerlösung von 1 mg% zu einer leichten Erregung. Höhere Konzentrationen (5—20 mg%) riefen Tonusanstieg und mehrstündige sehr starke Erregung des Präparates hervor.

Vom Oleum Tanaceti genügten schon Konzentrationen von 5 bis 8 mg%, um am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels nach kurzer Latenzzeit (15—30 Minuten) eine deutliche Erregung herbeizuführen. Bei Konzentrationen von 10 mg% und mehr war die Erregung der Präparate recht heftig und gewöhnlich mit einer Tonussteigerung verbunden. Auch der nervenfreie Blutegelmuskel sprach bereits auf verhältnismäßig niedrige Konzentrationen (ab 10 mg%) an. Allerdings vergingen gewöhnlich 2—3 Stunden, ehe rhythmische Kontraktionen des Präparates auftraten.

Am Regenwurmmuskelpräparat war Oleum Tanaceti in Konzentrationen von 1,5—2,0 mg% an ebenfalls erregend wirksam. Konzentrationen von 10—20 mg% führten unmittelbar zu Tonussteigerung und zu kräftigem, rasch aufeinanderfolgenden Kontraktionen. Gewöhnlich trat dann nach $1^1/_2$—2 Stunden völlige Lähmung des Präparates ein, die sich oft nach weiteren 7—8 Stunden spontan zurückbildete, so daß jetzt vereinzelte, aber sehr kräftige Kontraktionen (8—10 pro Stunde) erfolgten.

Oleum Terebinthinae rectif. bewirkte am Blutegelmuskel in Konzentrationen von 1—30 mg% nur mäßige Tonuszunahme. Ein Auftreten von rhythmischen Kontraktionen konnte nicht beobachtet werden.

Am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels waren dagegen bei Konzentrationen oberhalb 5 mg% außer Tonuszunahme auch eine deutliche Erregung festzustellen.

Am Regenwurmmuskelpräparat blieb Terpentinöl in Konzentrationen von 1—4 mg% wirkungslos; höhere Konzentrationen dagegen führten zu einer deutlichen Zunahme der rhythmischen Kontraktionen, wobei meist gleichzeitig eine Tonussteigerung, in einigen Fällen eine Tonussenkung beobachtet werden konnte.

Bei Versuchen mit Tetrachlorkohlenstoff, Tetrachloräthylen und Chloroform zeigte sich, daß diese Methanderivate auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels in Konzentrationen von 10—100 mg% deutlich erregend wirken. Der Tonus der Präparate nahm hierbei gewöhnlich deutlich ab. Bei Versuchen an den nervenfreien Muskelpräparaten von Blutegel und Regenwurm bewirkten Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachloräthylen bereits in niedrigen Konzentrationen (etwa ab 5—10 mg%) Auftreten kräftiger rhythmischer Kontraktionen, während Chloroform in niedrigen Konzentrationen wirkungslos war und in etwas höheren

Tonussenkung und — am Regenwurmmuskelpräparat - Verschwinden der spontanen Kontraktionen verursachte. Am Blutegelmuskelpräparat führten Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachloräthylen gewöhnlich erst in Konzentrationen von 50—100 mg% zu einer deutlichen Erregung, während am Regenwurmmuskelpräparat Konzentrationen oberhalb 15 mg% nach kurzer Erregung rasch eine vollständige und irreversible Lähmung der Präparate herbeiführten.

In der Abb. 3 zeigt die obere Kurve die Wirkung von Tetrachlorkohlenstoff (50 mg%) auf ein nervenfreies Rückenmuskelstück und die untere Kurve auf ein innerviertes Bauchmuskelpräparat vom Blutegel.

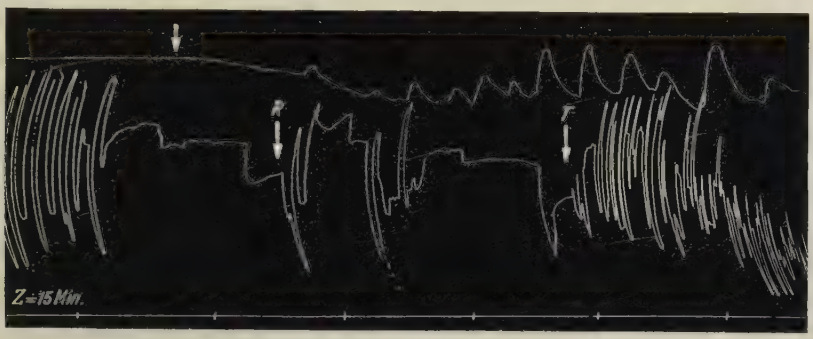


Abb. 3. Obere Kurve = nervenfreies Blutegelmuskelstück, bei ↓ Tetrachlorkohlenstoff. Untere Kurve = innerviertes Blutegelmuskelstück, bei *R* frische Ringerlösung, bei *T* Tetrachlorkohlenstoff. Zeitmarkierung: 15 Minuten.

Weiterhin wurden Versuche über den Einfluß von Kupfersulfat und Aluminiumchlorid auf die genannten drei Wurmpräparate, die sich bei diesen Versuchen in bicarbonatfreier Ringerlösung befanden, vorgenommen. Hierbei führten höhere Konzentrationen (100 mg%) an allen drei Präparaten gewöhnlich zunächst zu einer Kontraktur und später zur Erschlaffung sowie am Nerv-Muskelpräparat zum Aufhören der Spontanbewegungen. Niedrige Konzentrationen (1—30 mg%) waren wirkungslos. Die Angaben von Brandt[15] über eine erregende Wirkung von Kupferverbindungen auf die Regenwurmmuskulatur konnten nicht bestätigt werden.

Überblickt man die bisher geschilderten Untersuchungen, so kommt man zu dem Schluß, daß in vielen Fällen eine recht gute Übereinstimmung zwischen den Versuchen an lebenden Enchytraeiden und Ascariden in vitro und denen am Nerv-Muskelpräparat vom Blutegel sowie an den Muskelpräparaten von Blutegel und Regenwurm besteht. So erwiesen sich z. B. Filmaron, Thymol, Chlorthymol und Chlorcarvacrol an allen benutzten Testobjekten als sehr wirksam, während β-Naphthol, Menthol,

[15] Brandt, W.: Med. Klin. **1934**, Nr. 42.

Oleum Eucalypti und besonders Pelletierin stets nur schwach wirksam waren. Weiter zeigte sich, daß Santonin auch in hohen Konzentrationen sowohl auf lebende Würmer wie auf die Muskel- oder Nerv-Muskelpräparate nur mehr oder minder deutlich erregend wirkte, während bei den meisten anderen Mitteln an allen Versuchsobjekten der Erregung eine Lähmung folgte.

Andererseits fanden sich aber auch bemerkenswerte Unterschiede: Santonin wirkte z. B. auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels und das Muskelpräparat des Regenwurms viel stärker erregend, als man nach den Ergebnissen der Versuche an lebenden Würmern, insbesondere an Ascariden, hätte erwarten sollen. Ähnliches gilt für Lubisan. Umgekehrt ist z. B. Ascaridol für lebende Würmer (und hier wieder ganz besonders für Ascariden) sehr giftig, während die Wirkung auf Wurmmuskelpräparate und auf das Nerv-Muskelpräparat des Blutegels verhältnismäßig schwach ist. Es wird in dieser Beziehung von p-Cymol, dem zweiten wurmwirksamen Bestandteil des Chenopodiumöls, deutlich übertroffen, das aber für lebende Würmer fraglos weniger giftig ist als Ascaridol.

Diese Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Versuche an lebenden Enchytraeiden und Ascariden und den am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels sowie den Muskelpräparaten von Blutegel und Regenwurm erhaltenen konnten auf einer grundsätzlich abweichenden Empfindlichkeit von Regenwurm und Blutegel gegen die betreffenden Gifte beruhen. Da die Versuche an den Blutegel- und Regenwurmmuskelpräparaten weiter ergeben hatten, daß letztere erheblich leichter auf die verschiedenen Mittel ansprechen, so erschien die Prüfung der Frage wichtig, ob auch an den lebenden Tieren ein ähnlicher Empfindlichkeitsunterschied gegen diese Mittel besteht und ob außerdem Regenwurm und Blutegel sich anders gegen eine Reihe von Wurmmittel verhalten als Ascariden und Enchytraeiden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 3 zusammengestellt. Aus ihnen geht hervor, daß in der Tat der lebende Regenwurm stärker durch die geprüften Mittel geschädigt wird als der Blutegel, doch zeigt sich im übrigen, daß die Mittel, die auf Ascariden und Enchytraeiden stark wirken, auch für diese Würmer hochgiftig sind. Der verhältnismäßig schwachen Wirkung des Ascaridols auf Blutegel- und Regenwurmmuskulatur entspricht jedenfalls nicht eine ähnliche Unempfindlichkeit der beiden Wurmarten gegen diese Substanzen. Ferner sind z. B. Lubisan und die Pyrethrine trotz verhältnismäßig starker Wirkung auf Nerv-Muskel- und Muskelpräparate des Blutegels und des Regenwurms für die lebenden Würmer nicht wesentlich giftiger als für Enchytraeiden und Ascariden.

Zusammenfassend läßt sich zunächst feststellen, daß die geschilderten Untersuchungen in vielen Fällen Anhaltspunkte für Stärke und Art der Wurmwirksamkeit der geprüften Mittel geben. Besonders wertvoll ist hierbei ein bei allen Testobjekten gleichartiger Ausfall der Prüfung Dies ist unter den geprüften Mitteln besonders bei Filmaron, Thymol, Chlor-

Tabelle 3.

Substanz	Konzentration in mg%	Blutegel Eintritt völliger Lähmung nach Min.	Regenwurm Eintritt völliger Lähmung nach Min.
Filmaron	50	9	5
	10	60	18
Ascaridol	7	200	120
	15	180	100
p-Cymol	70	120	60
	30	360	120
Thymol	12	120	30
Chlorthymol	10	90	25
	5	180	45
Chlorcarvacrol	8	120	30
Hexylresorcin	12	30	15
	5	70	30
Lubisan	30	300	150
Ol. Terebinthinae	50	240	150
Ol. Tanaceti	50	180	40
Ol. Eucalypti	50	240	60
Pyrethrum	200	100	25
Tetrachlorkohlenstoff	50	90	20
Tetrachloräthylen	50	75	15
Chloroform	50	90	20

thymol und Chlorcarvacrol der Fall, die sich bei sämtlichen Versuchen als besonders wirksam erwiesen, ein Befund, der ja auch den mit diesen Verbindungen bei Wurmkuren gewonnenen Erfahrungen im wesentlichen zu entsprechen scheint.

Im übrigen muß man annehmen, daß Mittel, die für lebende Würmer verschiedener Art in vitro auffällig giftig sind, es wohl auch bei Wurmkuren für die im Darm des Wurmträgers lebenden Parasiten sein werden, auch wenn sie, wie z. B. Ascaridol, an isolierten Muskel- oder Nerv-Muskelpräparaten nicht so besonders stark wirksam erscheinen. Bei Stoffen, die umgekehrt für lebende Würmer in vitro praktisch ungiftig sind, an isolierten Muskel- oder Nerv-Muskelpräparaten aber auffällig stark excitierend wirken — hierher gehört von den untersuchten Mitteln besonders Santonin — ist eine Beurteilung schwierig.

Wenn auch Santonin anscheinend als Anthelminticum früher überschätzt worden ist und die praktische Erfahrung gelehrt hat, daß es von Chenopodiumöl bzw. von Ascaridol und von anderen Mitteln an Wirksamkeit übertroffen wird, so ist es andererseits doch fraglos in vielen Fällen mit gutem Erfolg als Ascaridenmittel gebraucht worden. Möglicherweise reicht zur Erklärung hierfür die Annahme einer „vermifugen Wirkung", bedingt durch die Erregung von Nervensystem und Muskulatur der Würmer, aus. Auch Diginea simplex (Helminal) könnte vielleicht aus diesem Grunde ein in vielen Fällen ausreichend wirksames Anthelminticum sein. Andererseits aber ist es denkbar, daß Santonin an sich

praktisch unwirksam ist und erst im Organismus in eine wurmwirksame Verbindung überführt wird (vgl. z. B. Kokame und Asada[16] sowie Asahina und Momose[17]).

III.

In weiteren Versuchen wurde die Toxizität der verschiedenen Mittel bei oraler Verabfolgung an weißen Mäusen verglichen In Fortsetzung früherer Versuche (Oelkers[18]) wurde hierbei z. T. gleichzeitig geprüft, ob die Giftigkeit der verschiedenen Pharmaca bei Lösung bzw. Emulsion in Öl oder Wasser größer ist. Die Tabelle 4 gibt die wichtigsten Ergebnisse wieder. In der Tabelle wird von jedem Mittel die kleinste Dosis, die ernste Vergiftungserscheinungen auslöste und bei einzelnen Tieren bereits tödlich wirkte (toxische Dosis) sowie die kleinste, bei allen Tieren mit Sicherheit tödlich wirkende Dosis angegeben.

Die Tabelle zeigt, daß von den meisten daraufhin geprüften Mitteln wässerige Emulsionen giftiger als ölige Lösungen sind. Dies gilt allerdings nur dann, wenn die betreffenden Mittel zur Herstellung der wässerigen

Tabelle 4.

Mittel	Ölige Lösung		Wässerige Suspension	
	Toxische Dosis g/kg	Sicher letale Dosis g/kg	Toxische Dosis g/kg	Sicher letale Dosis g/kg
Filmaron	0,45	0,70	0,30	0,60
Pelletierinsulfat	—	—	1,50*	2,50*
Santonin	0,35	0,60	0,30	0,60
Ascaridol	0,15*	0,30*	0,10*	0,15*
p-Cymol	2,50*	5,50*	2,0*	2,50*
Thymol	1,60	1,90	0,6	0,80
Chlorthymol	1,25	1,70	—	—
Chlorcarvacrol	0,30	0,60	—	—
Naphthalin	0,70	1,20	—	—
β-Naphthol	0,35	0,60	—	—
Hexylresorcin	0,30	0,90	—	—
Lubisan	9,0*	11,0*	—	—
Menthol	0,60	1,20	—	—
Oleum Eucalypti	1,0*	2,50*	—	—
Oleum Tanaceti	0,60*	0,95*	—	—
Oleum Terebinthinae	2,0*	2,20*	—	—
Rotenon	0,20	0,55	0,25	0,50
Acranil	1,2	1,60	—	—
Tetrachlorkohlenstoff	4,0*	7,50*	3,0*	6,50*
Tetrachloraethylen	3,50*	6,00*	2,50*	5,50*
Chloroform	1,5*	3,0*	—	—

* ccm.

[16] Kokame, Y., u. J. Asada: Trans. jap. path. Soc. **16**, 107 (1918) [zitiert nach Ber. Ges. Physiol. **49**, 710 (1929)]. — [17] Asahina, Y., u. T. Momose: Ber. dtsch. chem. Ges. **71**, 1421 (1938). — [18] Oelkers, H.-A.: Münch. med. Wschr. **1940**, 1026.

Emulsionen zunächst auf das feinste pulverisiert, dann sorgfältig mit Mucilago Gummi arabici verrührt und auf das erforderliche Volumen mit Wasser oder Kochsalzlösung verdünnt werden. Stellt man gröbere Suspensionen bzw. einfache wässerige Aufschwemmungen her, so ist die Giftigkeit geringer als die der öligen Lösungen.

So erklärt sich z. B. der Befund (2) einer Wirksamkeitssteigerung von Adalin durch Auflösen in Olivenöl, der bei Versuchen an Kaninchen erhalten worden war. Bei den damaligen Kontrollversuchen war Adalin in einer größeren Menge heißen Wassers teils gelöst, teils (ohne Zusatz von Mucilago Gummiarabici) aufgeschwemmt worden und wirkte so deutlich langsamer und schwächer als bei der Lösung in Olivenöl. Neue Versuche zeigten nun, daß eine wie oben beschrieben hergestellte feine Adalinsuspension ungefähr ebenso stark und in gleicher Zeit narkotisch wirkt wie die entsprechende Lösung in Öl.

In der Praxis werden weder Adalin noch geeignete Wurmmittel wie z. B. Thymol als wässerige Emulsionen eingegeben. In Pulverform mit etwas Wasser verabfolgt werden aber nach den bisherigen Untersuchungen beide Mittel weniger rasch resorbiert als entsprechende ölige Lösungen.

Weiter zeigt die Tabelle, daß unter den verhältnismäßig viel als Wurmmittel gebrauchten Verbindungen Ascaridol, β-Naphthol, Chlorcarvacrol, Hexylresorcin, Santonin und Filmaron die giftigsten sind. Unter den übrigen Mitteln, die nach den geschilderten Reagensglasversuchen und z. T. auch nach den Erfahrungen in der Praxis [19], den eben genannten nur wenig an Wirkung auf die Darmparasiten nachstehen, zeichnen sich Cymol, Thymol und Chlorthymol durch eine ganz erheblich geringere Giftigkeit aus. Ebenso ist Terpentinöl, das nach den verschiedenen Reagensglasversuchen zu urteilen eher stärker wurmwirksam als Oleum Tanaceti und Oleum Eucalypti ist, für die Maus weniger giftig als diese beiden gelegentlich zu Wurmkuren gebrauchten ätherischen Öle.

Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachloräthylen zeigten bei den Versuchen an Mäusen ungefähr die gleiche Giftigkeit. Chloroform, das ja gelegentlich als Bandwurmmittel empfohlen wurde [20], ist ungefähr doppelt so giftig.

Erwähnenswert sind ferner noch die Versuche, durch mehrfache Eingabe eines 10%igen Pyrethrumsols (Chem. Fabrik Promonta) zu einer letalen Dosis für diese Substanz zu kommen. Es zeigte sich, daß die dreimalige Beibringung von 0,3 ccm des 10%igen Sols pro 10 g Maus in Abständen von 24 Stunden erforderlich war, um den Tod von etwa 50% der so behandelten Tiere zu verursachen. Die mittlere letale Dosis von Pyrethrum beträgt also unter diesen Versuchsbedingungen ungefähr 90 mg pro 10 g Maus.

Wenn auch aus den oben geschilderten Versuchen hervorgeht, daß die Wirkung der Pyrethrine auf die Würmer in erster Linie eine erregende ist, und daß Lähmung und Tod der Würmer erst bei verhältnismäßig hohen Konzentrationen und nach längerer Einwirkungszeit erfolgen,

[19] Schüffner, W., u. H. Verwoort: Münch. med. Wschr. **1913**, S. 129. — [20] Straub, W.: Münch. med. Wschr. **1936**, S. 324.

so macht doch die geringe Giftigkeit die gefahrlose Anwendung höherer Dosen als bei anderen Mitteln möglich. Anscheinend ist bei den Pyrethrinen die an ein gutes Anthelminthicum zu stellende Forderung der Unresorbierbarkeit im Magen-Darmtractus des Wurmträgers weitgehend erfüllt.

Eigenartig ist die verhältnismäßig hohe Giftigkeit von Rotenon, das ja in Wasser praktisch unlöslich und auch in Fetten verhältnismäßig schlecht löslich ist. Trotzdem entwickeln sich die Vergiftungssymptome schon bald nach der Eingabe relativ kleiner Gaben und die tödliche Wirkung höherer Dosen pflegt sich innerhalb $^1/_2$—2 Stunden einzustellen.

Bei Toxizitätsbestimmungen mit Aufgüssen von Diginea simplex, dem wirksamen Bestandteil des Präparates Helminal (Merck), konnten nach Eingabe von 0,5 ccm eines 10%igen Aufgusses pro 10 g Maus keine Vergiftungssymptome beobachtet werden. Die Droge, die sich nach den oben geschilderten Untersuchungen durch eine starke erregende Wirkung auf Würmer und Wurmmuskelpräparate auszeichnet, ist mithin für den Warmblüter bei oraler Verabfolgung ungiftig.

IV.

Bei einigen orientierenden Versuchen, die mit den verschiedenen Anthelminticis am nach Straub isolierten Froschherzen (Rana temporaria) ausgeführt wurden, fiel Filmaron durch eine verhältnismäßig stark herzschädigende Wirkung auf. Konzentrationen von 1—2 mg% führten meist fast augenblicklich zum Herzstillstand, der sich durch Einbringen frischer Ringerlösung in die Herzkanüle nicht wieder beseitigen ließ. Auch wenn die Filmaronkonzentration in der Ringerlösung nur 0,4—0,5 mg% betrug, sanken nach einigen Minuten Hubhöhe und Frequenz der Herzkontraktionen und nach einiger Zeit trat Ventrikelstillstand ein. Die Vorhöfe pflegten noch einige Zeit stark verlangsamt weiterzuschlagen. Die Filmaronschädigung des Herzens war bei diesen Versuchen auch dann nicht „auswaschbar", wenn die Filmaron enthaltende Ringerlösung bereits bei noch vorhandener Ventrikeltätigkeit durch zusatzlose Ringerlösung ersetzt wurde.

In einigen Fällen wurde der Versuch gemacht, die Filmaronschädigung durch Coffein, das der Ringerlösung zu 5—20 mg% zugesetzt wurde, zu beheben. Dies gelang jedoch nicht. Man hatte vielmehr den Eindruck, daß Coffein das Zugrundegehen des Herzens noch beschleunigte.

In einigen daraufhin am ungeschädigten Froschherzen unternommenen Versuchen war Coffein in Konzentrationen unterhalb 2,5 mg% gewöhnlich ohne jede Wirkung; Konzentrationen von 2,5—10 mg% steigerten meist die Frequenz bei gleichzeitiger Abnahme der Kontraktionshöhe. Höhere Konzentrationen (20 bis 50 mg%) verringerten unter Rhythmusstörungen Hubhöhe und Frequenz und führten nach verschieden langer Zeit zum Herzstillstand. Die Angaben von Hendrych[21], wonach Coffein in Konzentrationen oberhalb 10 mg% eine günstige Wirkung auf das Temporarierherz ausüben soll, ließen sich mithin nicht bestätigen.

[21] Hendrych, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 738 (1936).

Günstiger als Coffein wirkte Adrenalin: Wurde die Filmaron zu 0,4—0,5 mg% enthaltende Ringerlösung bei Beginn des Nachlassens der Herztätigkeit durch eine Adrenalin zu 0,1—1 mg% enthaltende Ringerlösung ersetzt, so gelang es meist, die frühere Herztätigkeit wieder herzustellen. Der einmal eingetretene Herzstillstand ließ sich aber auch durch Adrenalin nicht wieder beseitigen.

Santonin hatte in Konzentrationen von 1—5 mg% keine Wirkung auf das isolierte Froschherz. Etwas höhere Konzentrationen führten unter starker Frequenzzunahme zum Kleinerwerden der Kontraktionen. Indessen trat auch nach längerer Einwirkung einer 10 mg%igen Santoninlösung (in Froschringer) kein Herzstillstand ein (vgl. Trendelenburg[7]). Nach Ersatz der santoninhaltigen durch frische Ringerlösung stellte sich die normale Herztätigkeit verhältnismäßig rasch wieder her.

Ähnlich wie Santonin wirkten Thymol, p-Cymol, Ascaridol, β-Naphthol und Naphthalin nur verhältnismäßig schwach und erst in Konzentrationen oberhalb von 5—10 mg% und mehr schädigend auf das isolierte Froschherz. In jedem Falle waren die eingetretenen Schädigungen durch frische Ringerlösung verhältnismäßig leicht wieder zu beseitigen. Vom Pyrethrum wurde sogar eine 1%ige Emulsion ohne nachweisbare Schädigung lange Zeit ertragen.

Nach diesen Untersuchungen wirkt von den geprüften Mitteln nur Filmaron auf das isolierte Froschherz in verhältnismäßig niedrigen Konzentrationen schädigend ein, so daß an die Möglichkeit gedacht werden kann, daß eine herzschädigende Wirkung auch bei der Filmaronvergiftung von Mensch oder Tier eine Rolle spielt.

Zusammenfassung.

Die Wirkungen zahlreicher als Wurmmittel verwendeter Substanzen wurden an verschiedenen Testobjekten in vitro miteinander verglichen. Außerdem wurde die Giftigkeit der betreffenden Pharmaca für die weiße Maus bei oraler Verabfolgung festgestellt.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Über die physiologischen Wirkungen einiger Amino- und Nitrobrenzcatechin-Verbindungen und Adrenalyl-azoproteine.

Von

L. Kesztyüs und St. Went.

(Eingegangen am 10. August 1941.)

Wir haben schon in einer vorangehenden Arbeit (1) über die Synthesen berichtet, die zwecks Herstellung eines Adrenalin-Eiweißkomplexes durchgeführt waren. Es wurden zu diesem Zwecke eine Reihe von Verbindungen hergestellt, die durch verschiedene Nitro- und Aminobrenzcatechin-derivate zu der Synthese des Nitro- bzw. Aminoadrenalins führten.

Über die Herstellung der Aminobrenzcatechin-Verbindungen haben wir schon früher (1) ausführlich berichtet. Das Prinzip des Verfahrens ist das folgende: Nitrierung des Brenzcatechins in Äther mittels konz. Salpetersäure. Das derart gewonnene Nitrobrenzcatechin wurde mit Sn und HCl zu Aminobrenzcatechin reduziert. Aus dem Aminobrenzcatechin kann — durch die Stolzsche Adrenalinsynthese und durch Kochen mit Chloracetylchlorid — Amino-chloraceto-brenzcatechin hergestellt werden, welche mit Monomethylamin Aminoadrenalon gibt. Das Aminoadrenalon wurde auf elektrolytischem Wege zu Aminoadrenalin reduziert.

Die Reihe der untersuchten Aminobrenzcatechin-Verbindungen ist die folgende*):

Aminobrenzcatechin $C_6H_3\begin{cases}(OH)_2\\NH_2\end{cases}$.

0,2506 g Substanz gaben 28,2 ccm N (21°, 745 mm).
0,3347 g Substanz gaben 0,6426 g CO_2 und 0,1941 g H_2O.

$C_6H_7O_2N$ Ber.: C 66,02%, H 6,47%, N 12,80%.
Schmelzpunkt: 144° C. Gef.: C 65,92%, H 6,49%, N 12,81%.

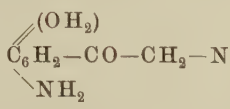
Amino-chloraceto-brenzcatechin $C_6H_2\begin{cases}(OH_2)\\NH_2\end{cases}-CO-CH_2Cl$.

0,2660 g Substanz gaben 16,22 ccm N (21°, 749,5 mm).
0,2996 g Substanz gaben 0,5223 g CO_2 und 0,1081 g H_2O.

$C_8H_8O_3NCl$ Ber.: C 47,64%, H 4,00%, N 6,89%.
Schmelzpunkt: 159° C. Gef.: C 47,55%, H 4,04%, N 6,98%.

* Wir geben hier nachträglich die Verbrennungsergebnisse der Aminobrenzcatechin-Verbindungen an, die in unserer vorangehenden Arbeit (1) nicht mitgeteilt waren.

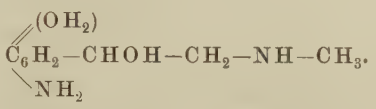
Aminoadrenalon (Amino-methylaminoaceto-brenzcatechin)



0,0879 g Substanz gaben 11,3 ccm N (21° C, 754 mm).
0,2232 g Substanz gaben 0,4519 g CO_2 und 0,1241 g H_2O.

$C_9H_{12}O_3N_2$	Ber.: C 55,07%, H 6,17%, N 14,79%.
Schmelzpunkt: 168° C.	Gef.: C 55,21%, H 6,22%, N 14,81%.

Aminoadrenalin

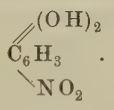


0,1002 g Substanz gaben 12,6 ccm N (23°, 756 mm).
0,2564 g Substanz gaben 0,5115 g CO_2 und 0,1642 g H_2O.

$C_9H_{14}O_3N_2$	Ber.: C 54,51%, H 7,12%, N 14,15%.
Schmelzpunkt: 177° C.	Gef.: C 54,41%, H 7,16%, N 14,42%.

Herstellung der Nitrobrenzcatechin-Verbindungen.

Nitrobrenzcatechin



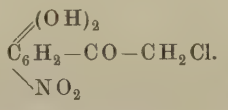
Prinzip: Das Brenzcatechin wurde in ätherischer Lösung mittels konz. Salpetersäure zu Nitrobrenzcatechin nitriert.

20 g Brenzcatechin wurden in 500 ccm Äther gelöst und danach 6 ccm konz. HNO_3 zugefügt. Der Äther wurde nach 24stündigem Stehen abdestilliert, die zurückgebliebene schwarze Salbe mit wasserfreiem Benzol gekocht und filtriert. Nach Abkühlen scheidet das Nitrobrenzcatechin in nadelförmigen Kristallen aus. Das Filtrieren und Kochen mit Benzol wird solange wiederholt, bis kein Nitrobrenzcatechin mehr zu extrahieren ist. — Ausbeute: 6 g Nitrobrenzcatechin (28% der Theorie)

0,3052 g Substanz gaben 24,3 ccm N (24°, 750 mm).
0,2745 g Substanz gaben 0,4566 g CO_2 und 0,0797 g H_2O.

$C_6H_5O_4N$	Ber.: C 45,38%, H 3,25%, N 9,03%.
Schmelzpunkt: 156° C.	Gef.: C 45,36%, H 3,25%, N 9,03%.

Nitro-chloraceto-brenzcatechin



Prinzip: Durch Kochen des Nitrobrenzcatechins mit Chlorazetylchlorid in Benzolmedium entsteht Nitro-chloraceto-brenzcatechin.

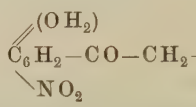
25 g Nitrobrenzcatechin wurden mit 30 g Chloracetylchlorid (hergestellt von Phosphoroxychlorid in Monochloressigsäureüberschuß) und 150 ccm

trockenem Benzol 48 Stunden lang gekocht. Die Lösung wird unter Verdampfen von Salzsäure schwarz gefärbt. Das Benzol wird nach 2 Tagen abdestilliert, der Rückstand mit heißem Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. Aus dem Extrakt scheiden rot gefärbte Kristalle aus, welche aus heißem Wasser umkristallisiert werden können. Ausbeute: 8%.

0,3634 g Substanz gaben 18,95 ccm N (19°, 750 mm).
0,2543 g Substanz gaben 0,3834 g CO_2 und 0,0595 g H_2O.

$C_8H_6O_5NCl$	Ber.: C 41,47%, H 2,61%, N 6,05%.
Schmelzpunkt: 175° C.	Gef.: C 41,12%, H 2,62%, N 6,02%.

Nitroadrenalon (Nitro-methylaminoaceto-brenzcatechin)



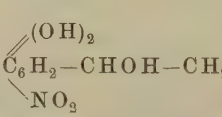
Prinzip: Aminoadrenalon entsteht, wenn zu einer alkoholischen Suspension des Nitro-chloraceto-brenzcatechin eine konzentrierte Lösung des Monomethylamins zugefügt wird.

20 g Nitro-chloraceto-brenzcatechin wurden in 25 ccm Alkohol suspendiert und unter Kühlen 40 ccm 40%ige Momomethylaminlösung zugefügt. Das Nitroadrenalon scheidet in der Form von kristallischem Niederschlag aus. Auflösung in verdünnter Salzsäure, Fällung mittels NH_3, Waschen mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther. Ausbeute: 32%.

0,1450 g Substanz gaben 15,3 ccm N (20°, 756,4 mm).
0,2936 g Substanz gaben 0,5132 g CO_2 und 0,1180 g H_2O.

$C_9H_{10}O_5N_2$	Ber.: C 47,76%, H 4,46%, N 12,45%.
Schmelzpunkt: 187° C.	Gef.: C 47,67%, H 4,50%, N 12,19%.

Nitroadrenalin.



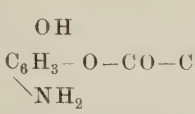
Prinzip: Umbau des Nitroadrenalons zu Nitroadrenalin durch elektrolytische Reduktion; die Ketogruppe wandelt sich zu einer sekundären Alkoholgruppe um.

5 g Nitroadrenalon wurden in 250 ccm 5%iger H_2SO_4-Lösung gelöst und durch Verwendung einer Diaphragma, Bleielektroden, 2,5 Volt und 0,25 Amp. bei 18° C Temperatur 24 Stunden lang reduziert. Der Schwefelsäureüberschuß wurde mit $BaCO_3$ niedergeschlagen und das Filtrat in Vakuum eingedampft. Aus dem entstandenen rotbraunen amorphen Pulver (Sulfat des Methylaminoalkohols des Nitrobrenzcatechins) wird das Nitroadrenalin mit Alkalien niedergeschlagen. Ausbeute: 80%.

0.1324 g Substanz gaben 14,3 ccm N (19°, 743 8 mm).
0,3008 g Substanz gaben 0,5212 g CO_2 und 0,1567 g H_2O.

$C_9H_{12}O_5N_2$	Ber.: C 47,34%, H 5,31%, N 12,28%.
Schmelzpunkt: 194° C.	Gef.: C 47,25%, H 5,42%, N 12,36%.

Nebenprodukt: Aminobrenzcatechin-monochloracetester.



Prinzip: Durch Kochen des Aminobrenzcatechins mit Chlorazetylchlorid entsteht neben Amino-chloraceto-brenzcatechin auch das Chloracetester des Aminobrenzcatechins.

Nach Ott (2) entsteht auf die Wirkung der Halogenfettsäure zum erstenmal das Phenolester der Säure, welches erst durch die katalytische Wirkung des Phosphoroxychlorids zu Phenolketon umgewandelt wird. Das unveränderte Monochloracetat des Aminobrenzcatechins bildet mit anderen, noch nicht isolierten Verbindungen eine ölartige Mischung; man gewinnt aus diesem das Aminobrenzcatechin-chloracetester durch Vakuumdestillation. Die Verbindung läßt sich bei 110—115° C Temperatur und 15 Hg mm Druck abdestillieren. Es scheidet bei 89° C in grauen Kristallen rein aus. Ausbeute: 14%.

0,1728 g Substanz gaben 11,05 ccm N (20°, 749,5 mm).
0,3265 g Substanz gaben 0,5693 g CO_2 und 0,1205 g H_2O.

$C_8H_8O_3NCl$ Ber.: C 47,64%, H 4,00%, N 6,89%.
Schmelzpunkt: 89° C. Gef.: C 47,56%, H 4,12%, N 7,01%.

Die Wirkungen dieser Präparate waren am hypodynamen Froschherzen, am Blutdruck von Katzen, am virginellen Katzenuterus und Nickhaut und am Trendelenburgschen Froschpräparat untersucht. Es sei in dieser Hinsicht darauf hingewiesen, daß nach Mannich (3) eine zur Seitenkette orthoständige Aminogruppe bei Substanzen der Adrenalinreihe eine starke Abnahme der Giftigkeit, zugleich aber eine fast völlige Vernichtung der therapeutisch wertvollen Wirkungen bedingt.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle, S. 242, zusammengefaßt.

Es kann auf Grund der mitgeteilten Untersuchungsergebnisse vor allem festgestellt werden, daß durch Einführung einer Amino- bzw. Nitrogruppe in den Benzolring die physiologische Wirkung des Adrenalins nicht wesentlich beeinflußt wird. Es ist nämlich zu sehen, daß die Wirkungen des Adrenalins, sowie die des Amino- und Nitroadrenalins an allen Testobjekten sowohl qualitativ, wie auch quantitativ praktisch gleich waren.

Die Unterschiede zwischen den Wirkungen des Amino-chloraceto-brenzcatechins und Aminoadrenalons bzw. die des Nitro-chloraceto-brenzcatechins und Nitroadrenalons demonstriert die entscheidende Wichtigkeit des Seitenkette-Methylamins in der Entfaltung der Adrenalinwirkung. Während nämlich das Amino- und Nitro-chloraceto-brenzcatechin praktisch wirkungslos ist, besitzen die Methylamingruppen enthaltenden Verbindungen annähernd dieselbe Wirksamkeit wie das Adrenalin selbst.

Amino- Nitrobrenzcatechin-Verbindungen	Isoliertes hypodyn. Froschherz	Blutdruck (Katze)	Uterus (Katze)	Nickhaut (Katze)	Trendelenburg-Frosch
Brenzcatechin	+ 0,5—1,5 γ	+ 100 γ schwache, verlängerte Wirkung	0	0	0
Aminobrenzcatechin	+ 50—100 γ	0	0	+ 100 γ (1—2 mm)	0
Amino-chloraceto-brenzcatechin	+ 5—10 γ	0	0	0	+ 1000 γ
Aminobrenzcatechin-monochloracetester	+ 0,1 γ	0	0	0	0
Aminoadrenalon	+ 0,0005—0,001 γ	+ 10 γ (19 mm Hg)	+ 5 (19 mm)	+ 5 γ (8 mm)	+ 1 γ
Aminoadrenalin	+ 0,0001—0,0005 γ	+ 10 γ (32 mm Hg)	+ 5 γ (77 mm)	+ 5 γ (14 mm)	+ 0,1 γ
Nitrobrenzcatechin	+ 10—100 γ	0	0	0	0
Nitro-chloraceto-brenzcatechin	+ 5—10 γ	0	0	0	+ 200 γ
Nitroadrenalon	+ 0,01—0,05 γ	+ 10 γ (10 mm Hg)	+ 5 γ (9 mm)	+ 100 γ (5 mm) 10 γ (1—2 mm)	+ 5 γ
Nitroadrenalin	+ 0,0001—0,0005 γ	+ 10 γ (35 mm Hg)	+ 5 γ (73 mm)	+ 10 γ (8 mm) 5 γ (4 mm)	+ 1 γ
Adrenalin	+ 0,0001—0,0005 γ	+ 10 γ (22—34 mm Hg)	+ 5 γ (18—42 mm) 1 γ (15 mm)	+ 5 γ (14 mm)	+ 0,1 γ

+ adrenalinähnliche Wirkung, 0 keine Wirkung.

Bezüglich der biologischen Wirkungen des Adrenalin-azoproteine haben wir in unserer vorangehenden Arbeit (1) schon mitgeteilt, daß diese Eiweißverbindungen des Adrenalins in lebendigen Organismen sich als chemospezifische Antigene verhalten in dem Sinne, daß die Spezifität der entstandenen Antikörper durch die Adrenalylgruppe des injizierten Azoproteins bestimmt wird. Diese Tatsache weist aber auch auf die Möglichkeit hin, daß dieselben Antikörper — ähnlich wie unsere vorhergehend (4) beschriebenen Thyreoglobulin- bzw. Thyroxinimmunsera — nicht nur in serologischen, sondern auch in physiologischem Sinne eine antagonistische Wirkung gegen das Hormon des Nebennierenmarks ausüben.

In einer Versuchsreihe untersuchten wir die Wirkung verschiedener Adrenalindosen auf den Blutdruck, auf die Pupillen und Milz, sowie auf die

entsprechenden isolierten Organe von Tieren, die vorher mit Adrenalin-azoproteine behandelt waren. Unsere Annahme war, daß die Adrenalin-wirkungen in diesen Versuchen ausbleiben müssen, falls die entstandenen Antikörper tatsächlich fähig sind, diese Wirkungen zu hemmen. Es wurde aber auf Grund dieser Untersuchungen festgestellt, daß durch Immunisierung mittels Adrenalin-azoeiweißkörper die Adrenalinempfindlichkeit der Versuchstiere und die der isolierten Organe überhaupt nicht beeinflußt wurde.

Es konnte nun angenommen werden, daß die Ursache des negativen Ausfalles dieser Versuche darin zu suchen ist, daß das in die Blutbahn eingespritzte Adrenalin seine Wirkung sofort ausübt, wogegen zum Zustandekommen einer Antigen-Antikörper-Reaktion eine bedeutende Zeitdauer nötig ist. Auf Grund dieser Überlegung setzten wir also die wirksame Adrenalinmenge den Immsera zu und untersuchten erst nach Ablauf der zum Zustandekommen der Antigen-Antikörper-Reaktion nötigen Zeitdauer die Wirkung dieser Mischungen auf die entsprechenden Testobjekte. Die Versuche konnten auf diese Weise um so mehr durchgeführt werden, da der Abbau des Adrenalins durch die Serumeiweißkörper verhindert wird, so daß die Wirkung des Adrenalins in solchen Mischungen mehrere Stunden lang unverändert bleibt.

Die Wirkung des Adrenalin + Immunserum-Mischungen wurde an Blutdruck, Uterusmuskel und Nickhaut, sowie an isolierten Frosch- und Säugetierherzen untersucht. Diese Versuche gaben aber ebenfalls vollkommen negative Resultate.

Wir haben nun in einer früheren Arbeit (4) festgestellt, daß das Thyreoglobulin — d. h. die natürliche Eiweißverbindung des Thyreoideahormons — im lebenden tierischen Organismus eine starke Antigenwirkung entfaltet. In diesen Versuchen verhielt sich das parenteral eingeführte Thyreoglobulin als ein chemospezifisches Antigen in dem Sinne, daß das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielte, wodurch es die Spezifität der entstandenen Antikörper beeinflußt bzw. bestimmt hatte. Die wichtigste Folge dieses Verhaltens war, daß auf parenterale Verabreichung des Thyreoglobulins Antikörper erzeugt wurden, welche einen manifesten antagonistischen Einfluß gegen die stoffwechselsteigernde Wirkung des Thyroxins ausübten. Es konnte auch festgestellt werden, daß der thyroxinhemmende Faktor bei Ratten durch Sera von mit Thyreoglobulin vorbehandelten Tieren auch auf Normaltiere übertragbar ist, d. h. daß diese Antihormone — ähnlich wie die übrigen Immunkörper — auch im Blute der Versuchstiere in erheblichen Mengen auftreten.

Es erhebt sich nun die Frage, warum die auf die Wirkung der Adrenalyl-azoproteine entstandene chemospezifische Antikörper diese Antihormonwirkung entbehren? — Die Erklärung ist wahrscheinlich darin zu finden, daß die Kupplung des Adrenalins mit Eiweiß nur in der Form des Adrenalin-

diazonium-chlorids möglich war, welches in dem Antigenmolekül das eigentliche Adrenalinradikal nicht ersetzen konnte.

Zusammenfassung.

Es konnte im Laufe der zum Teil schon früher geschilderten Synthese von Aminoadrenalin und Adrenalyl-azoproteine eine Reihe bisher unbekannter Amino- und Nitrobrenzcatechin-Verbindungen hergestellt werden, deren pharmakologische Wirkungen am hypodynamen Froschherzen an Blutdruck von Katzen, am virginellen Katzenuterus und Nickhaut, sowie am Trendelenburgschen Froschpräparat untersucht wurden. Es konnte u. a. festgestellt werden, daß durch Einführung der Nitro- bzw. Aminogruppe in den Benzolring die physiologische Wirkung des Adrenalins kaum, oder gar nicht beeinflußt wurde. — Die Adrenalyl-azoproteine entfalten keine Adrenalinwirkung; die schon früher ausgeführten Immunisierungsversuche haben aber gezeigt, daß sich die Eiweißverbindungen des Adrenalins als chemospezifische Antigene verhalten in dem Sinne, daß die Spezifität der entstandenen Antikörper durch die Adrenalylgruppe des injizierten Azoproteins bestimmt wird. Es lag also der Gedanke nahe, daß dieselben Antikörper — ähnlich wie die vorhergehend beschriebenen Thyreoglobulinimmunsera — nicht nur in serologischem, sondern auch im physiologischen Sinne eine antagonistische Wirkung gegen das Hormon des Nebennierenmarks ausüben. Die in dieser Richtung durchgeführten Versuche haben aber gezeigt, daß durch Behandlung mittels Adrenalyl-azoproteine die Adrenalinempfindlichkeit der Versuchstiere nicht beeinflußt wurde und daß die Sera solcher Tiere auch in vitro nicht imstande waren, Adrenalin zu inaktivieren. Die Erklärung ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß die Kuppelung des Adrenalins mit den Eiweißmolekülen nur in der Form des Adrenalin-diazoniumchlorids möglich war.

Literatur.

1) Went, S., u. L. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 609 (1939). — 2) Ott, E.: Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 1068 (1926). — 3) Mannich, C., u. G. Berger: Arch. Pharmaz. **1939**, S. 117. — 4) Went, S., K. Piribauer u. L. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 312 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Wirkungsunterschiede optisch isomerer Phenyl- und Oxyphenylalkylamine.

Von

Heribert Konzett.

Mit 6 Textabbildungen (14 Einzelbildern).

(Eingegangen am 18. Juli 1941.)

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsweise optisch isomerer Substanzen haben gezeigt, daß sich solche Körper vielfach in der Stärke, gelegentlich aber auch in der Art ihrer Wirkung unterscheiden. Wenn wir uns hier auf isomere Phenyl- und Oxyphenylalkylamine beschränken und von den wenigen bisher bekannten Fällen einer Verschiedenheit der Wirkungsart absehen, die sich z. B. bei Sympatol so äußert, daß die linksdrehende Verbindung am isolierten Darm eine Tonusabnahme und Hemmung, die rechtsdrehende hingegen die umgekehrte Reaktion auslöst [1, 2], so sind es vor allem quantitative Verschiedenheiten der Kreislaufwirkung, welche immer wieder zur Kennzeichnung der biologischen Wertigkeit solcher isomerer Verbindungen herangezogen werden. Bei manchen Körpern, wie etwa bei Adrenalin und Sympatol, lassen sich derartige quantitativ vergleichende Untersuchungen verhältnismäßig leicht durchführen, weil die Wirkungen rasch abklingen und die Empfindlichkeit des Versuchsobjektes (z. B. einer dekapitierten Katze) auch bei wiederholter Verabfolgung fast unverändert erhalten bleibt. Wesentlich schwieriger gestaltet sich die Prüfung, wenn es sich um Substanzen handelt, welche bei mehrmaliger Darreichung eine Einbuße ihrer Wirksamkeit erleiden. Man bezeichnet diese Erscheinung als „Tachyphylaxie", wobei im Gegensatz zur ursprünglichen Begriffsbestimmung, die nur eine Abnahme der Wirksamkeit kennzeichnen sollte[3], jetzt auch Fälle von Wirkungsumkehr den tachyphylaktischen Reaktionen zugerechnet werden[4]. Berücksichtigt man zudem noch die großen individuellen Empfindlichkeitsunterschiede der einzelnen Versuchstiere, die z. B. bei Ephedrin ungleich stärker hervortreten als bei Adrenalin[5], so erscheint es verständlich, wenn Kreitmair bezüglich des Wirkungsunterschiedes von l- und l-d-Ephedrin zu dem Schluß kommt, er sei so gering, „daß er mit den bisherigen pharmakologi-

[1] Tainter, M. L., u. M. A. Seidenfeld: J. Pharmacol. (Am.) **40**, 23 (1930). — [2] Siehe auch über Corbasil: Schaumann, O.: Med. u. Chem. III, S. 383. Leverkusen a. Rh., Bayer, 1936. — [3] Champy, Chr., u. E. Gley: C. r. Soc. Biol. **71**, 159 (1911). — [4] Literatur siehe bei Rietschel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 454 (1939). — [5] Kreitmair, H.: Ebenda **143**, 359 (1929); vgl. die Abb. 1 und 2 auf S. 361.

schen Methoden nicht nachweisbar ist“[5]. Seither haben allerdings Untersuchungen von Schaumann[6], Chen[7, 8] und Mitarbeitern u. a. die Verschiedenheit von l-, d- und l-d-Ephedrin an verschiedenen Testobjekten so überzeugend dargetan, daß an der Überlegenheit, will sagen stärkeren Wirksamkeit von l-Ephedrin, wenigstens im Experiment, nicht mehr zu zweifeln ist.

In letzter Zeit wurde nun der Versuch unternommen, die dem quantitativen Vergleich an sich hinderliche Erscheinung der Tachyphylaxie zur Auffindung von Wirkungsunterschieden heranzuziehen. Smiatek[9] konnte in Blutdruckversuchen über l- und d-Veritol für die rechtsdrehende Verbindung eine stärkere Neigung zur Tachyphylaxie nachweisen als für die linksdrehende. Dieser Befund war für uns insofern überraschend, als wir in früheren, bisher unveröffentlichen Versuchen am Gefäßsystem beobachtet hatten, daß bei optischen Isomeren stets der Körper die ausgeprägtere Tachyphylaxie zeigt, der pressorisch weniger wirksam ist; es wäre also nach unseren Befunden für das stärker drucksteigernde d-Veritol eine geringere Tachyphylaxie zu erwarten gewesen. Da die Klärung dieser Frage für den Zusammenhang zwischen pressorischer Wirkung und Tachyphylaxie sowie für die biologische Unterscheidungsmöglichkeit optischer Isomerer von Bedeutung ist, sei im folgenden über unsere seinerzeitigen, nunmehr erweiterten Versuche berichtet.

Versuchsanordnung.

Um ein klares Bild von der Gefäßwirkung zu bekommen, wurde der größte Teil der Versuche an isoliert durchbluteten (Dale-Schuster-Pumpe) Hinterextremitäten von Hunden durchgeführt. Änderungen der Gefäßweite kommen bei dieser Anordnung in einer Änderung des Durchströmungsdruckes zum Ausdruck.

Zur Arterialisierung des defibrinierten Blutes diente entweder das Herzlungenpräparat des gleichen Tieres oder ein künstlicher Arterialisator (Modell Hooker).

Die Präparation erfolgte in Morphin (5 mg/kg)-Chloralose (8 cg/kg)-Narkose an Tieren im Gewicht von 12—16 kg. Die arterielle Kanüle war in die Aorta knapp vor der Teilung in die beiden Arteriae iliacae, die venöse Kanüle in gleicher Höhe in die Cava inferior eingebunden. Um einen Blutverlust in die obere Körperhälfte während des Versuchs zu verhindern, wurden die Bauchdecken (Haut und Muskulatur) links und rechts zwischen je zwei großen, sehr fest sitzenden Klemmen von der Linea alba gegen die Wirbelsäule zu durchtrennt und der Dickdarm zwischen zwei

[6] Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 208 (1928). — [7] Chen, K. K.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 237 (1928). — [8] Chen, K. K., Chang-Keng Wu u. E. Henriksen: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 363 (1929), daselbst auch Literaturangabe. — [9] Smiatek, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 547 (1939).

Ligaturen durchschnitten. Unmittelbar vor der Umschaltung auf die künstliche Durchblutung wurde dann an der Stelle der Bauchdecken-Durchtrennung ein Ecraseur angelegt, dessen Kette unter den großen Gefäßen so durchgeführt war, daß beim späteren Zuziehen des Ecraseurs nur die nicht von den Klemmen erfaßten Reste der Bauch- und Rückenmuskulatur einschließlich der Haut gegen die Wirbelsäure gepreßt wurden. Auf diese Weise läßt sich eine maximale Kompression, allenfalls sogar ein Durchquetschen der Wirbelsäule erzielen, ohne daß Arterie und Vene für die Einbindung der Kanülen aus ihrer Lage gebracht bzw. gezerrt werden.

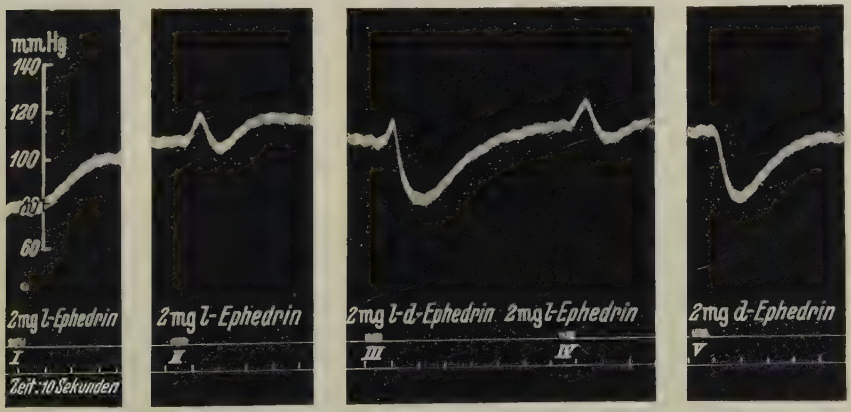
Ergänzend wurden einige Blutdruckversuche an dekapitierten Katzen angeschlossen.

Die zu untersuchenden optischen Isomeren von Ephedrin, Pseudoephedrin, Pervitin und Veritol injizierten wir entweder in die arterielle Zuleitung oder an Katzen in die Vena femoralis*.

Versuchsergebnisse.

l-, d-, l-d-Ephedrin.

Die erste (genügend große) Gabe von l-Ephedrin bewirkt an den isoliert durchströmten Hinterextremitäten immer eine arterielle Drucksteigerung (s. Abb. 1 bei I). Bei der zweiten Injektion derselben Menge



Für alle Abbildungen (außer Abb. 3) gilt: Durchblutung der hinteren Extremitäten eines Hundes mit einer Dale-Schuster-Pumpe. Durchströmungsdruck mit Quecksilbermanometer registriert. Zeitmarken 10 Sekunden.

Abb. 1. Hund, 16 kg. Zwischen den einzelnen Kurvenabschnitten 90 Sekunden Pause.

l-Ephedrin (II) zeigt sich meist unmittelbar nach der Verabreichung ein plötzlicher Druckanstieg, dem ein rascher Abfall auf das Ausgangsniveau

* Für die Überlassung dieser Körper sind wir den Firmen E. Merck, Knoll A. G. und Temmler-Werke zu Dank verpflichtet.

und dann ein allmählicher zweiter Anstieg folgen. Wird nun in kurzem Abstand weiter l-d-Ephedrin injiziert (III), so sehen wir nach einer kleinen initialen Drucksteigerung eine beträchtliche Drucksenkung. Daß diese Senkung nicht etwa nur eine durch die vorangegangenen Injektionen bedingte Reaktion auf ein beliebiges Ephedrin, sondern sicher die dem l-d-Ephedrin entsprechende ist, läßt sich aus dem Verhalten des Druckes nach weiteren Injektionen von l- bzw. d-Ephedrin eindeutig erweisen: wie die Kurve zeigt, bewirkt eine neuerliche Gabe von 2 mg l-Ephedrin (bei IV) eine ähnliche Druckänderung wie die zweite Injektion (II), nur ist der sekundäre Blutdruckanstieg weniger ausgesprochen. d-Ephedrin hingegen löst eine reine Senkung aus (V).

Diese Unterschiede der Reaktion gegenüber den Ephedrinen treten bei wiederholter Injektion auch unabhängig von der Reihenfolge, in welcher die Isomeren injiziert werden, auf. So ist z. B. aus Abb. 2 ein ganz ähnliches

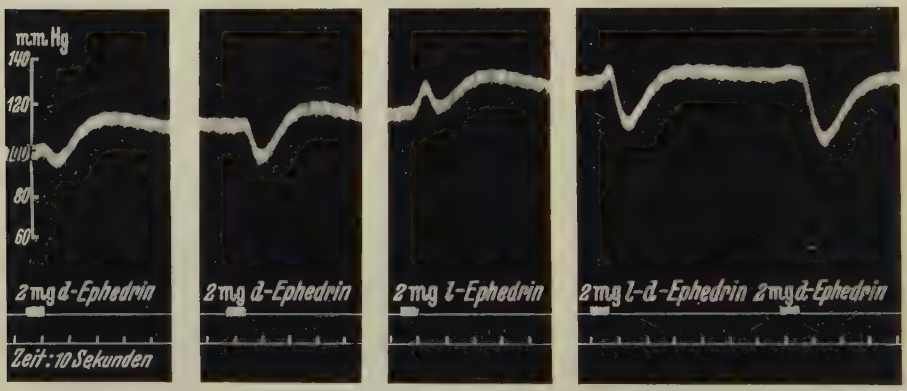


Abb. 2. Hund, 14 kg. Zwischen den einzelnen Kurvenabschnitten 2 Minuten Pause.

Verhalten abzulesen, obwohl in diesem Falle anfänglich d-Ephedrin gegeben wurde, das hier, wie auch in anderen Fällen, schon bei der ersten Injektion eine geringe initiale Drucksenkung auslöst. Immer wirkt bei wiederholter Injektion d-Ephedrin am stärksten blutdrucksenkend, l-d-Ephedrin läßt noch eine geringgradige anfängliche Steigerung mit folgender deutlicher Senkung erkennen, während nach l-Ephedrin der Druck kaum oder nur wenig unter das Ausgangsniveau sinkt.

Eine Ergänzung zu diesen Befunden stellen Versuche an dekapitierten Katzen dar. Wir fanden hier eine ähnliche Verschiedenheit der Reaktion wie bei den durchströmten Extremitäten. Besonders eindrucksvoll waren die Unterschiede, wenn durch eine Adrenalindauerinfusion der Blutdruck erhöht war. d-Ephedrin ließ auch in diesen Versuchen öfters schon bei der ersten Injektion eine rasch vorübergehende anfängliche Blutdrucksenkung erkennen (s. Abb. 3); bei der zweiten Injektion trat eine reine Senkung ein, während l-Ephedrin in der Folge noch stark pressorisch wirkte.

Damit stimmt auch ein Befund von Chen überein, der bei wiederholter Injektion von l- und l-d-Ephedrin am Hund mit l-d-Ephedrin schon in einem Zeitpunkt Blutdrucksenkungen erzielte, in welchem l-Ephedrin noch pressorisch wirksam war [10].

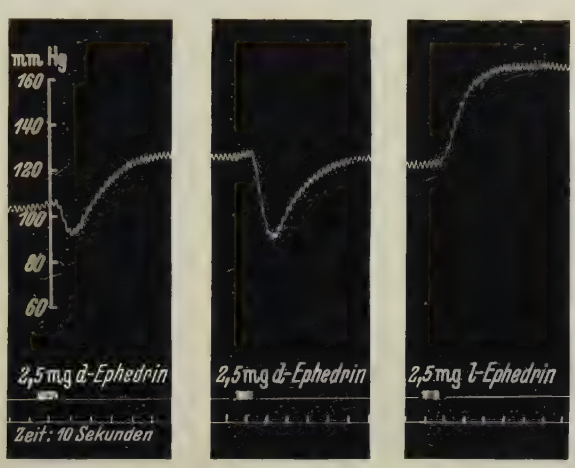


Abb. 3. Katze, 2500 g, in Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. femoralis. Zeitschreibung 10 Sekunden. Injektionen intravenös. Zwischen den einzelnen Kurvenabschnitten je 2 Minuten Pause.

l-, d-, l-d-Pseudoephedrin.

Auch die Isomeren von Pseudoephedrin geben bei wiederholter Injektion verschiedene Gefäßreaktionen, wobei es gleichgültig ist, ob von Anfang an die Isomeren von Pseudoephedrin oder von Ephedrin verabreicht werden. In Abb. 4 zeigen wir den charakteristischen Unterschied

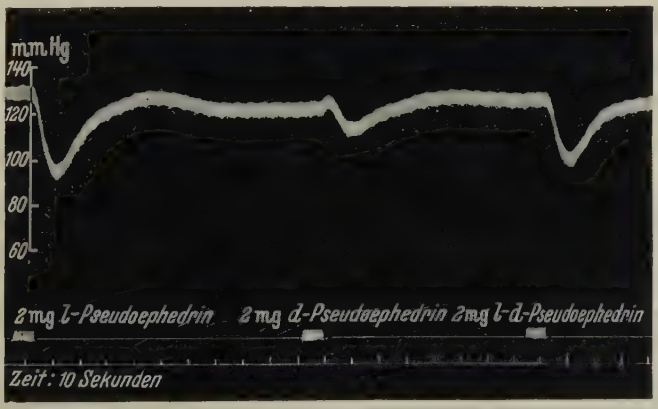


Abb. 4. Fortsetzung von Abb. 2.

[10] Chen, K. K.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 219 (1928); siehe Abb. 4 auf S. 223.

an einem Präparat, bei dem vorher die Ephedrinreaktionen von Abb. 2 ausgelöst worden waren.

Aus einem Vergleich der beiden Abbildungen geht hervor, daß sich die Pseudoephedrine umgekehrt verhalten wie die Ephedrine, d. h. d-Pseudoephedrin wirkt am schwächsten, l-Pseudoephedrin am stärksten drucksenkend, während die l-d-Verbindung eine Mittelstellung einnimmt.

Ein ähnlich gegensätzliches Verhalten der optischen Isomeren von Ephedrin und Pseudoephedrin findet sich auch bezüglich der pressorischen Wirkung [8], worauf wir in der Besprechung der Ergebnisse nochmals zurückkommen.

l-, d-, l-d-Pervitin.

Die anfängliche pressorische Wirkung dieses Körpers macht bei wiederholter Injektion ebenfalls einer depressorischen Platz. Diese Umkehr kann für Pervitin auch durch vorangehende genügend große Gaben von Ephedrin, Pseudoephedrin und Veritol erreicht werden. Es gilt also auch bei Pervitin die bei Veritol und Ephedrin schon öfters beschriebene gegenseitige Vertretbarkeit bei der Einleitung tachyphylaktischer Reaktionen.

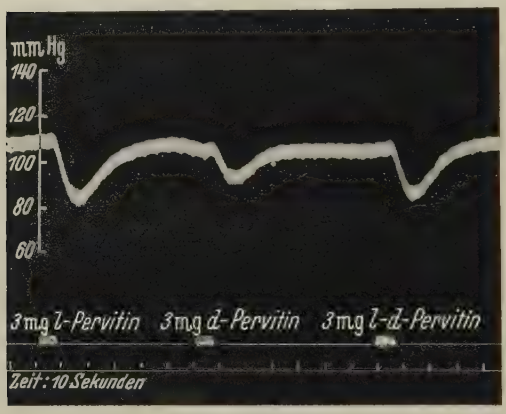


Abb. 5. Hund, 12 kg.

Die beiden Isomeren des Pervitins ergeben im Stadium der Tachyphylaxie reine Blutdrucksenkungen. Im Versuchsbeispiel Abb. 5 wurde die Tachyphylaxie durch Vorbehandlung mit Ephedrin herbeigeführt. Die folgenden Pervitininjektionen zeigen, daß die linksdrehende Verbindung am stärksten, die rechtsdrehende am schwächsten drucksenkend wirkt, während das Razemat eine Mittelstellung einnimmt.

l-, d-, l-d-Veritol.

Unter den für Pervitin eben beschriebenen Versuchsbedingungen geben auch die optischen Isomeren von Veritol quantitativ verschiedene Reaktionen. Abb. 6 veranschaulicht dieses Verhalten. An dem mit Ephedrin und Pseudoephedrin vorbehandelten Präparat löst d-Veritol noch eine geringgradige Drucksteigerung aus, l-Veritol wirkt stark, l-d-Veritol nach einer initialen Drucksteigerung leicht drucksenkend. Ähnliche Reaktionen sind auch zu beobachten, wenn die Tachyphylaxie von Anfang an durch Veritolinjektionen herbeigeführt wird.

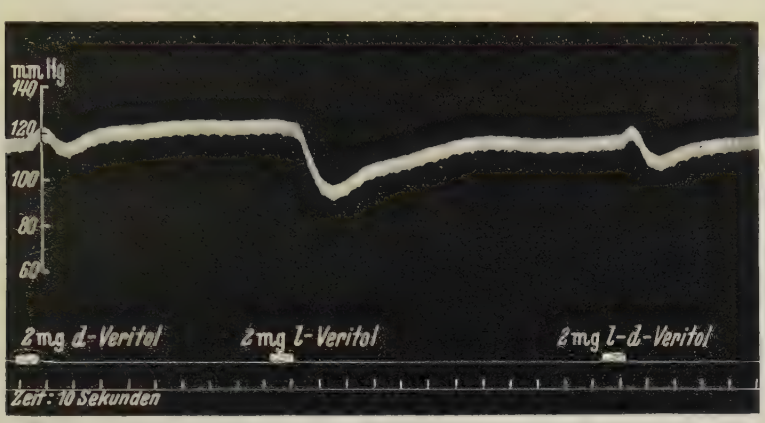


Abb. 6. Hund, 15 kg.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß die optischen Isomeren von Ephedrin, Pseudoephedrin, Pervitin und Veritol quantitative Wirkungsunterschiede zeigen, die besonders an der Entwicklung der sog. „Tachyphylaxie" und an der Reaktionsweise im Stadium der Tachyphylaxie erkennbar werden. Berücksichtigt man in diesem Zusammenhang auch ihre verschiedene pressorische Wirkungsstärke, so ergibt sich zwischen der Intensität der drucksteigernden Wirkung und der Neigung zu tachyphylaktischer Drucksenkung eine bemerkenswerte Beziehung. Von den Isomeren des Ephedrins wirkt die linksdrehende Verbindung stärker gefäßverengend. Diese Wirkung bleibt bei wiederholter Injektion, wenn auch abgeschwächt, verhältnismäßig lange erhalten und schlägt nur selten in eine geringe Gefäßerweiterung um, während das konstriktorisch schwächer wirksame d-Ephedrin unter gleichen Bedingungen sehr rasch zu ausgiebiger Drucksenkung führt.

Pseudoephedrin verhält sich gerade umgekehrt: hier ist die linksdrehende Verbindung pressorisch schwächer wirksam und führt dementsprechend nach Ausbildung der Tachyphylaxie zu stärkerer Drucksenkung als d-Pseudoephedrin. Die Razemate von Ephedrin und Pseudoephedrin nehmen sowohl hinsichtlich der pressorischen wie auch der tachyphylaktischen Reaktion eine Mittelstellung zwischen den optischen Isomeren ein.

Weniger deutlich sind die Wirkungsunterschiede bei den Isomeren von Pervitin ausgeprägt, doch treten sie auch hier in grundsätzlich gleicher Weise zutage: das pressorisch wirksamere d-Pervitin (Handelspräparat)* löst bei wiederholter Verabfolgung schwächere Drucksenkungen aus als die l-Form.

* Einer persönlichen Mitteilung von Hauschild verdanke ich die Angabe, daß d-Pervitin den Blutdruck etwas mehr steigert als l-Pervitin.

Ein ähnlicher Antagonismus zwischen pressorischer Wirkungsstärke und tachyphylaktischem Druckabfall bei wiederholter Injektion findet sich auch bei den Isomeren von Veritol, das sich von den bisher angeführten Phenylderivaten dadurch unterscheidet, daß es eine Hydroxylgruppe im Benzolkern trägt, also ein Oxyphenylderivat darstellt. In seiner einführenden Veröffentlichung über Veritol erwähnt Rein[11], „daß von den optisch-aktiven Anteilen des razemischen Gemisches der Substanz die Rechtsform vielfach stärker wirkt als die Linksform". Diese Angabe wurde in Untersuchungen am Menschen bestätigt[12].

Andererseits konnten Lindner und Göpfert[13] weder an der Beeinflussung des Blutdruckes noch an anderen Organwirkungen Unterschiede zwischen d- und l-Veritol und dem Razemat feststellen, wobei sie es allerdings für möglich halten, „daß bei anderen Untersuchungsobjekten und -methoden das d-Veritol und l-Veritol sich doch in ihrer pharmakologischen Wirkung unterscheiden." In unseren Versuchen war der Unterschied meist recht deutlich, da l-Veritol auffällig stärker blutdrucksenkend wirkte als d-Veritol. In dem angeführten Kurvenbeispiel (Abb. 6) war durch d-Veritol trotz vorangegangener Ephedrin- und Pseudoephedringaben sogar noch eine geringfügige Drucksteigerung zu erzielen, während l-Veritol sowie das Razemat (Handelspräparat) den Blutdruck senkten. Wir sehen hierin unter Berücksichtigung der Ergebnisse bei Ephedrin, Pseudoephedrin und Pervitin einen indirekten Beweis für die von Rein[11] gefundene pressorische Überlegenheit des rechtsdrehenden Veritols.

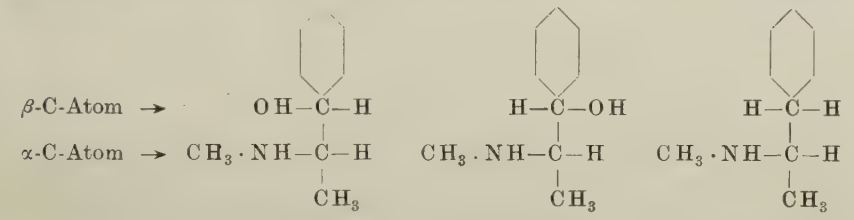
Bei den Isomeren der untersuchten optisch-aktiven Körper besteht demnach ein Gegensatz zwischen ihrer pressorischen Wirkung und dem Grad der bei wiederholter Injektion auftretenden Tachyphylaxie bzw. Blutdrucksenkung. Das pressorisch wirksamere Isomer führt auch bei wiederholter Injektion stets zu geringfügigeren Blutdruckabfällen als das pressorisch schwächere; dieses dagegen löst schon nach wenigen Injektionen starke Drucksenkungen aus. Hierin unterscheiden sich unsere Befunde von den einleitend erwähnten Beobachtungen von Smiatek[9], der die Tachyphylaxie bei d-Veritol stärker ausgeprägt fand als bei l-Veritol. Wir sind nicht in der Lage, diesen Gegensatz aufzuklären und können nur darauf hinweisen, daß unsere Untersuchungen, die außer Veritol auch Ephedrin, Pseudoephedrin und Pervitin umfassen, für alle Körper eine geradezu gesetzmäßige Beziehung zwischen pressorischer Wirkung einerseits und Tachyphylaxie andererseits ergeben haben.

In einigen Fällen haben wir auch versucht, ob die Erscheinung der Tachyphylaxie durch Atropin oder Cocain zu beeinflussen sei, da Rietschel[4] angibt, die tachyphylaktische Reaktion ließe sich mit diesen Mitteln teilweise oder völlig aufheben. Unsere Beobachtungen ergaben

[11] Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — [12] Metz, E.: Klin. Wschr. **1939**, S. 1408. — [13] Lindner, W., u. K. Göpfert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 675 (1938).

aber keinerlei Anhaltspunkte für eine Änderung der tachyphylaktischen Blutdrucksenkung nach Atropin oder Cocain, so daß wir diesbezüglich mit Eichler[14] übereinstimmen, der durch Atropingaben „keine Verlangsamung im Tempo der Tachyphylaxie" erreichen konnte.

Einen weiteren Einblick in die hier aufgezeigten Unterschiede im pharmakologischen Verhalten der optischen Isomeren können wir durch die Berücksichtigung des sterischen Baues dieser Körper gewinnen. Die Ephedrine verfügen über zwei asymmetrische Kohlenstoffatome. Die Stereoisomerie zwischen l-Ephedrin und d-Pseudoephedrin ist durch verschiedene Anordnung der OH-Gruppe am β-Kohlenstoff bedingt, während das Asymmetriezentrum mit der basischen Gruppe bei beiden gleich ist; es gehen nämlich beide Verbindungen, wie aus den Formelbildern ersichtlich, durch Reduktion der OH-Gruppe in das gleiche d-Desoxyephedrin über[15, 16].



l-Ephedrin | d-Pseudoephedrin | d-Desoxyephedrin (= d-Pervitin)

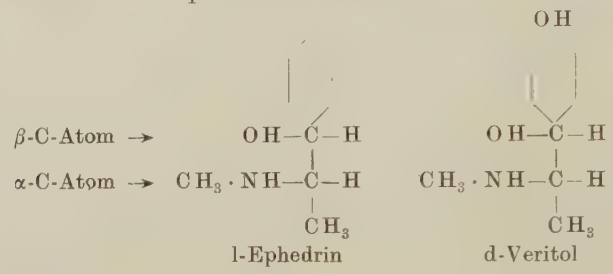
Daraus ergibt sich, daß die pressorisch wirksameren Isomeren von Ephedrin (l-Form), Pseudoephedrin (d-Form) und Pervitin (d-Form) bei unterschiedlicher Konfiguration am β-Kohlenstoff und zum Teil entgegengesetzter Drehung des polarisierten Lichtes eine gleiche sterische Anordnung am α-Kohlenstoff mit der basischen Gruppe aufweisen. Dementsprechend haben auch die pressorisch schwächer und tachyphylaktisch stärker wirksamen Antipoden (d-Ephedrin, l-Pseudoephedrin und l-Pervitin) am α-Kohlenstoff eine übereinstimmende sterische Anordnung. Hier läßt sich somit zum ersten Male bei mehreren Verbindungen die trotz verschiedener optischer Aktivität einheitlich gerichtete pharmakologische Wirksamkeit auf die ihnen gemeinsame Konfiguration am asymmetrischen C-Atom mit der salzbildenden Methylaminogruppe zurückführen.

Auch bei Veritol trifft diese Gesetzmäßigkeit zu, obwohl sich dieser Körper von den eben angeführten dadurch unterscheidet, daß er ein Oxyphenylderivat darstellt. Durch geeignete chemische Eingriffe lassen sich nämlich l-Ephedrin in d-Veritol bzw. d-Ephedrin in l-Veritol überführen*. Das pressorisch wirksamere d-Veritol hat demnach die gleiche

[14] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — [15] Schmidt, E.: Arch. Pharmaz. **252**, 120 (1914). — [16] Leithe, W.: Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. **65** B, 660 (1932).

* Diese Angabe verdanke ich einer Mitteilung der Wissenschaftlichen Abteilung der Firma Knoll A. G.

sterische Anordnung am α-Kohlenstoff wie die pressorisch wirksameren optischen Isomeren von Ephedrin, Pseudoephedrin und Pervitin, während das pressorisch schwächer und tachyphylaktisch stärker wirkende l-Veritol bezüglich dieser Eigenschaft mit den im gleichen Sinne wirkenden Antipoden der erwähnten Körper übereinstimmt.



l-Ephedrin d-Veritol

Zusammenfassung.

An isoliert durchbluteten Hinterbeinen von Hunden wurden unterschiedliche Reaktionen der optischen Isomeren von Ephedrin, Pseudoephedrin, Pervitin und Veritol gefunden. Bei wiederholter Injektion führen die pressorisch weniger wirksamen Isomeren (d-Ephedrin, l-Pseudoephedrin, l-Pervitin und l-Veritol) rascher zur Tachyphylaxie und lösen in diesem Zustand ausgiebigere Gefäßerweiterungen aus als die pressorisch stärker wirksamen. Es besteht demnach ein Gegensatz zwischen pressorischer Aktivität und tachyphylaktischer Reaktion.

Die pharmakologische Wirksamkeit der optischen Isomeren der besprochenen Körperklasse läßt sich unabhängig vom Drehungssinn der optischen Aktivität auf gleiche sterische Anordnung an dem Asymmetriezentrum, das den basischen Rest trägt, zurückführen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Der Einfluß von Ultraviolettbestrahlung auf adrenalinähnliche Körper.

II. Mitteilung: Äthyl- und Isopropyladrenalin. Isopropylsympatol.

Von

Heribert Konzett.

Mit 6 Textabbildungen (19 Einzelbildern).

(Eingegangen am 18. Juli 1941.)

Frühere Versuche[1] haben den Nachweis erbracht, daß durch Ultraviolettbestrahlung (UVB) einerseits aus Sympatol ein pressorisch hochwirksamer Körper entsteht, der sich biologisch und chemisch als Adrenalin erweist, und daß andererseits das gebildete Adrenalin durch UVB wieder zerstört wird.

Es schien nun von Interesse, ob ähnliche Umsetzungen unter dem Einfluß von Ultraviolettlicht auch bei Derivaten von Adrenalin und Sympatol zu erzielen seien, die sich nur durch ein anderes Radikal am Amino-Stickstoff der Seitenkette von den Ausgangssubstanzen unterscheiden. Derartige Körper, die statt des Methylrestes am Amino-N eine Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl- oder Isobutylgruppe tragen, haben wir hinsichtlich ihrer broncholytischen und Kreislaufwirkung näher geprüft[2, 3]. Aus der Reihe dieser Adrenalinabkömmlinge wählten wir für die Untersuchung des Einflusses von Ultraviolettlicht einerseits „Äthyl-" und „Isopropyladrenalin", die bei gleichsinniger broncholytischer Fähigkeit charakteristische Unterschiede, z. B. bezüglich der Blutdruckwirksamkeit aufweisen, andererseits „Isopropylsympatol", das sich für die vorliegende Untersuchung, die an die Wirkung von UVB auf Adrenalin und Sympatol anknüpft, besonders eignet.

Die Methodik der UVB mit einer Hanauer Quarzlampe war die gleiche wie in unseren früheren Versuchen[1]. Die angegebenen Körper kamen in Form der Hydrochloride zur Verwendung und wurden in 0,9% Kochsalzlösung gelöst.

[1] Konzett, H., u. W. Weis: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 440 (1939). — [2] Konzett, H.: Ebenda **197**, 27 (1940). — [3] Konzett, H.: Ebenda **197**, 41 (1940).

Versuchsergebnisse.

A. Äthyl- und Isopropyladrenalin.

1. Farbänderung durch Bestrahlung.

Äthyladrenalin wurde in Konzentrationen von 1 : 1000 und 1 : 5000 bestrahlt. Lösungen von Äthyladrenalin, die auch bei Stehenlassen an der Luft schon rot werden, zeigen diese Verfärbung unter dem Einfluß von UVB früher. Mit der Dauer der Bestrahlung (1—6 Stunden) nimmt die Intensität der Verfärbung zu.

Isopropyladrenalin bestrahlten wir in Konzentrationen 1 : 10000 und 1 : 50000. Die Lösungen färbten sich zunächst, wie auch bei Stehenlassen, rot, wurden aber bei langer Bestrahlung gelb und schließlich farblos. Verdünnte Lösungen unterliegen diesem Farbwechsel rascher als konzentrierte.

2. Auswertung der bestrahlten Lösungen.

a) Blutdruckwirkung.

Durch die Bestrahlung nimmt die Blutdruckwirkung von Äthyl- und Isopropyladrenalin ab. Wie bei Adrenalin ist die Dauer der Bestrahlung

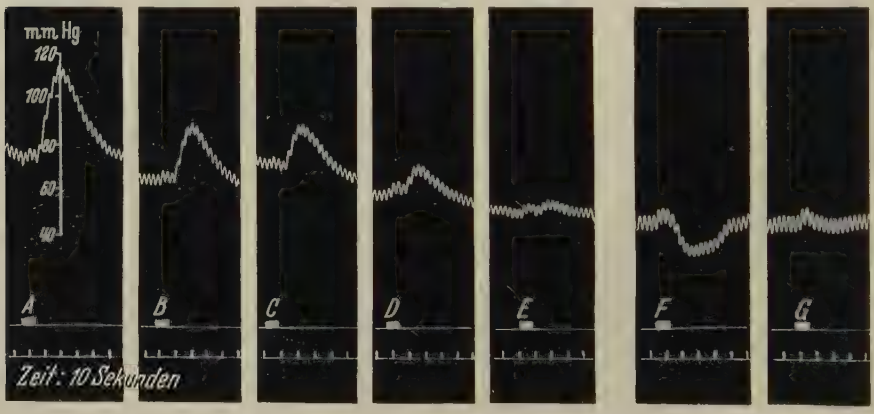


Abb. 1. Katze 2,2 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. femoralis. Zeitschreibung: 10 Sekunden. Injektionen intravenös. Äthyladrenalinlösung 1 : 5000; Isopropyladrenalinlösung 1 : 10000.

A: 200 γ Äthyladrenalin unbestrahlt. Beachte in den folgenden Bildern die Wirkungsabnahme nach 60 (B), 120 (C), 240 (D) und 300 (E) Minuten Ultraviolettbestrahlung.

F: 100 γ Isopropyladrenalin unbestrahlt; G: 100 γ Isopropyladrenalin nach 300 Minuten Ultraviolettbestrahlung.

und die Konzentration der Lösung von Bedeutung; verdünnte Lösungen verlieren ihre Wirksamkeit früher, bei konzentrierten Lösungen ist eine längere Bestrahlungsdauer für die gleiche Abschwächung notwendig. Aus Abb. 1 ist die Abnahme der pressorischen Wirkung von Äthyladrenalin unter fortgesetzter UVB ersichtlich, während die Abnahme der depressori-

schen Wirkung von Isopropyladrenalin an der Wirkungslosigkeit von 100 γ nach 300 Minuten Bestrahlung gezeigt wird.

b) Broncholytische Wirkung.

Ähnlich wie die Blutdruckwirkung nimmt unter UVB auch die broncholytische Wirkung von Äthyl- und Isopropyladrenalin ab. In Abb. 2 ist

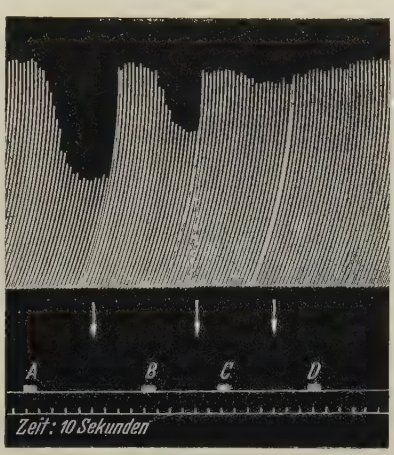


Abb. 2. Hund 12 kg. Morphin (5 mg/kg)-Chloralose (8 cg/kg)-Narkose. Thorax geöffnet. Künstliche Beatmung mit einer Starling-Pumpe. Maximaler Aufblasungsdruck 120 mm H_2O. Beatmungsfrequenz 21/Minute. Bronchialkrampf durch Pilocarpin. Zeitmarken 10 Sekunden. Injektionen intravenös. Das von den Lungen nicht aufgenommene Atemvolumen ist mit einem Pistonrekorder verzeichnet. Kleinerwerden der Ausschläge bedeutet: Lösung; Größerwerden: neuerliche Zunahme des Bronchialkrampfes. ▼ bedeutet Stillstand des Kymographions auf dem Höhepunkt der krampflösenden Wirkung bis zur Erreichung der anfänglichen Bronchokonstriktion. Methodik siehe bei [4].
A: 30 γ Isopropyladrenalin (1 : 10000) unbestrahlt. Dieselbe Menge hat nach 120 (B) bzw. 180 (C) Minuten Ultraviolettbestrahlung erheblich an broncholytischer Wirkung eingebüßt, nach 300 Minuten Ultraviolettbestrahlung sind auch 100 γ (D) völlig wirkungslos.

dieses Verhalten veranschaulicht; nach 120 Minuten Bestrahlung ist die Bronchialmuskelerschlaffung von 30 γ Isopropyladrenalin schon deutlich herabgesetzt, nach 180 Minuten kaum mehr vorhanden und nach 300 Minuten ist auch die dreifache Dosis wirkungslos.

c) Pulsfrequenz-Wirkung.

Die beiden Adrenalinderivate erhöhen die Pulsschlagzahl. Wir haben daher auch noch diesen Frequenztest zur Untersuchung der bestrahlten Lösungen herangezogen. Zu diesem Zweck injizierten wir die zu untersuchende Lösung Hunden intramuskulär. Bestrahlte Lösungen erwiesen sich dabei als wirkungslos (s. Abb. 3).

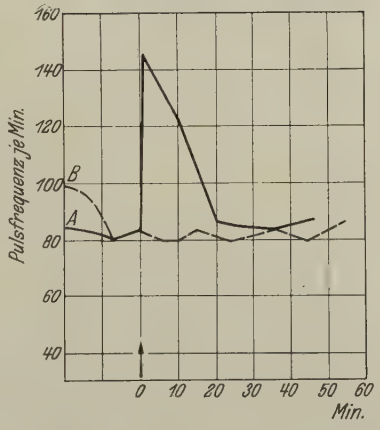


Abb. 3. Hund Lisa, 12 kg. Injektionen intramuskulär bei ▲.
Kurve A: 0,1 mg Isopropyladrenalin (1 : 10000) unbestrahlt.
Kurve B: 0,1 mg Isopropyladrenalin (1 : 10000) 240 Minuten ultraviolettbestrahlt.
Ordinate: Pulsfrequenz; Abszisse: Minuten nach Injektion

[4] Konzett, H., u. R. Rössler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 71 (1940).

3. Bestrahlung in Stickstoffatmosphäre.

Bei der Bestrahlung von Adrenalin hatten wir zeigen können, daß die Wirkung der UVB zum Teil an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden ist, da die Veränderungen in Stickstoffatmosphäre nur abgeschwächt zustande kommen. Äthyl- und Isopropyladrenalin verhalten sich in dieser Hinsicht insofern von Adrenalin verschieden, als sie unter UVB in Stickstoffatmosphäre (Methodik[1] s. S. 441) bedeutend weniger an Wirkungsstärke auf Blutdruck (vgl. Abb. 4), Bronchialmuskulatur und Schlagfrequenz verlieren.

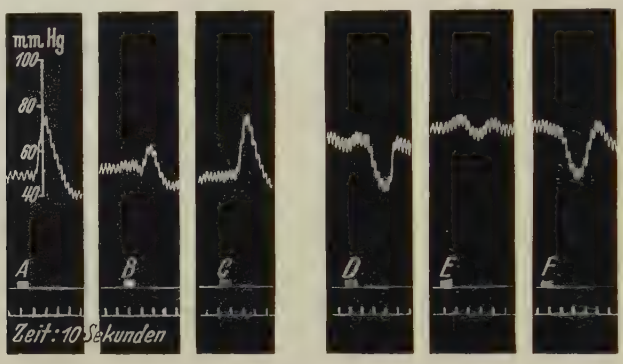


Abb. 4. Katze 2 kg. Versuchsanordnung wie bei Abb. 1.
In A ist die Wirkung von 200 γ unbestrahltem Äthyladrenalin dargestellt. Beachte die Unterschiede zwischen B: 200 γ Äthyladrenalin 180 Minuten bei Luftzutritt bestrahlt, und C: 200 γ Äthyladrenalin 180 Minuten in Stickstoffatmosphäre bestrahlt.
D: 20 γ Isopropyladrenalin unbestrahlt; E: dieselbe Menge nach 180 Minuten Ultravioletttbestrahlung bei Luftzutritt, F nach 180 Minuten Ultravioletttbestrahlung in Stickstoffatmosphäre.

B. Isopropylsympatol.

Dieser Körper, der sich vom Sympatol durch Einführung eines Isopropylrestes am Amino-Stickstoff an Stelle des Methylrestes unterscheidet, war von uns auf seine broncholytische Wirkung geprüft worden[2]. Dabei hatte sich Isopropylsympatol wirksamer als Sympatol erwiesen. Im übrigen konnten wir, ohne die Substanz näher zu untersuchen, feststellen, daß kleine Dosen (bis zu 1 mg und auch etwas darüber) keine Wirkung auf den Blutdruck oder die Herzfrequenz ausüben.

Ultraviolettbestrahlte Lösungen, die sich zuerst rosa, dann gelb verfärbten und bei genügend langer Bestrahlung wieder farblos wurden, wiesen neue Wirkungen auf: sie senkten den Blutdruck und erhöhten die Pulsfrequenz (s. Abb. 5) und gleichzeitig wurde die broncholytische Wirkung verstärkt.

Bei einer Bestrahlung in Stickstoffatmosphäre verhielt sich Isopropylsympatol ähnlich wie Sympatol: Die bestrahlten Lösungen blieben unverändert (vgl. Abb. 6), während bei Sauerstoffzutritt stets die oben angeführten Wirkungsänderungen zu beobachten waren.

Besprechung der Ergebnisse.

Die mitgeteilten Versuche knüpfen an frühere Untersuchungen an, die sich mit der Wirkungsänderung von Adrenalin und Sympatol durch UVB befaßten. Wir konnten nun ein grundsätzlich gleiches Verhalten gegenüber dem Ultraviolettlicht auch bei den Adrenalinderivaten Äthyl- und Isopropyladrenalin sowie bei Isopropylsympatol feststellen. Die gegensätzliche Wirkung von Äthyl- und Isopropyladrenalin am Blutdruck und ihr gleichsinniger Einfluß auf die Bronchialmuskulatur und die Herzfrequenz werden durch UVB abgeschwächt und bei genügend langer Bestrahlung aufgehoben. Ein Unterschied gegenüber Adrenalin besteht lediglich darin, daß eine Bestrahlung bei Sauerstoffabschluß in Stickstoffatmosphäre (während 300 Minuten) zu keiner merklichen Wirkungseinbuße

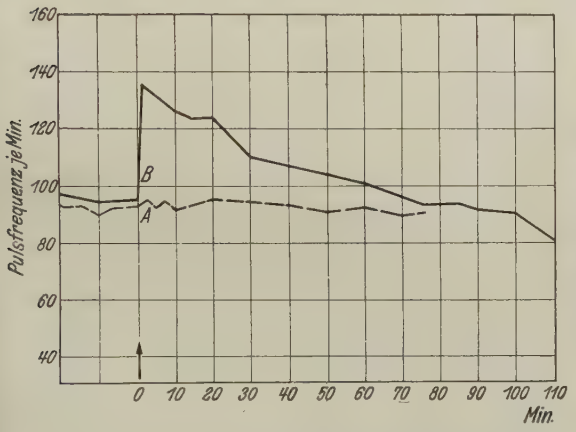


Abb. 5. Hund Max, 9 kg. Injektionen intramuskulär bei ↑. Kurve A: 0,2 mg Isopropylsympatol unbestrahlt. Kurve B: 0,2 mg Isopropylsympatol 90 Minuten ultraviolettbestrahlt. Ordinate: Pulsfrequenz, Abszisse: Minuten nach Injektion.

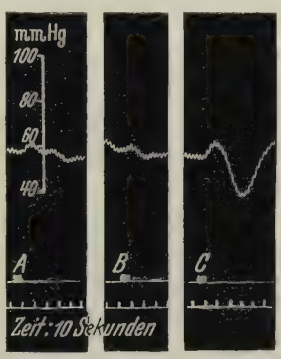


Abb. 6. Katze 1,8 kg. Versuchsanordnung wie bei Abb. 1. A: 200 γ Isopropylsympatol (1 : 5000). Vergleiche damit die Wirkung derselben Menge nach 300 Minuten Ultraviolettbestrahlung in Stickstoffatmosphäre (B) und bei Luftzutritt (C).

der so behandelten Lösung führt, während unter den gleichen Bedingungen Adrenalin schon eine merkbare Wirkungsabnahme erfährt. Mit dieser schwereren Angreifbarkeit durch UVB lassen sich im Vergleich zu Adrenalin auch die längere Wirkungsdauer und vor allem die ausgeprägtere perorale Wirksamkeit dieser Körper in Einklang bringen.

Aus Isopropylsympatol, das in kleinen Dosen nur broncholytisch, jedoch nicht pressorisch wirkt, entsteht durch UVB ein wirksamerer Körper, der den Blutdruck senkt, die Pulsfrequenz steigert und auch den Krampf der Bronchialmuskulatur besser löst. Diese Wirkungsverschiebung macht es wahrscheinlich, daß unter dem Einfluß von Ultraviolettlicht Isopropylsympatol in Isopropyladrenalin verwandelt wurde, ähnlich wie unter den gleichen Bedingungen aus Sympatol Adrenalin entsteht. In

dieser Annahme bestärken uns die beiden Tatsachen, daß nämlich die Wirkungsänderung durch UVB an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden ist und daß sie bei genügend lange fortgesetzter Bestrahlung wieder verschwindet. Es handelt sich also offenbar um einen oxydativen Vorgang, der mit der Anlagerung einer OH-Gruppe an den Phenolkern des Isopropylsympatol die Entstehung von Isopropyladrenalin ermöglicht. Das so entstandene Isopropyladrenalin müßte bei weiterer Bestrahlung wieder zerstört werden; auch das trifft zu, denn die bestrahlten Lösungen büßen bei sehr langer UVB ihre Wirkung schließlich wieder ein.

Da es in diesen Versuchen nur darum ging, das grundsätzliche Verhalten dieser Körper im Ultraviolettlicht zu prüfen, haben wir von einer quantitativen Untersuchung des aus Isopropylsympatol entstandenen Körpers abgesehen, zumal ein exakter biologischer Nachweis von Isopropyladrenalin derzeit noch nicht möglich ist.

Zusammenfassung.

1. Äthyl- und Isopropyladrenalinlösungen verlieren bei Ultraviolettbestrahlung (UVB) und Sauerstoffgegenwart ihre Wirkung auf den Blutdruck, die Herzfrequenz und die kontrahierte Bronchialmuskulatur. Bei Sauerstoffabschluß (Stickstoffatmosphäre) ist auch bei 300 Minuten dauernder UVB keine merkliche Wirkungsabnahme zu beobachten.

2. Isopropylsympatollösungen gewinnen durch UVB bei Sauerstoffgegenwart an broncholytischer Wirkung; gleichzeitig wirken sie nach UVB depressorisch und frequenzsteigernd. Bei Sauerstoffabschluß tritt diese Wirkungsänderung nicht ein. Es wird auf die Möglichkeit der Entstehung von Isopropyladrenalin aus Isopropylsympatol bei UVB hingewiesen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Der Einfluß von Ultraviolettbestrahlung auf adrenalinähnliche Körper.

III. Mitteilung: Ephedrin, Oxy- und Dioxyephedrine.

Von

Heribert Konzett.

Mit 4 Textabbildungen (13 Einzelbildern).

(Eingegangen am 18. Juli 1941.)

Aus Sympatol entsteht — wie wir zeigen konnten — durch Ultraviolettbestrahlung (UVB) bei Gegenwart von Sauerstoff Adrenalin[1]. Offenbar kommt es unter dem Einfluß von Ultraviolettlicht zu einer oxydativen Umsetzung in dem Sinne, daß eine zweite Hydroxylgruppe an den Phenolkern des Sympatol angelagert wird. Adrenalin selbst wird durch UVB zerstört. Die Anwesenheit von zwei phenolischen Hydroxylgruppen scheint die leichte Zerstörbarkeit zu bedingen, da nämlich auch Adrenalin-Derivate mit einer Äthyl- bzw. Isopropylgruppe am Aminostickstoff („Äthyl-, Isopropyladrenalin") durch UVB zerstört werden[2].

In Fortsetzung dieser Untersuchungsreihe haben wir auch den Einfluß der UVB auf Ephedrin sowie auf Oxy- und Dioxyephedrine untersucht*. Das schien deshalb interessant, weil es sich hier in Analogie zu Adrenalin und Sympatol um eine Reihe von Körpern handelt, die sich chemisch nur durch die Zahl bzw. Stellung der phenolischen OH-Gruppen unterscheiden. Da die Wirkungsänderungen unter dem Einfluß von Ultraviolettlicht bei Sympatol und Adrenalin vornehmlich auf chemischen Veränderungen an den phenolischen Hydroxylgruppen beruhen dürften, war aus Versuchen mit den verschiedenen Ephedrinen ein weiterer Einblick in die Bedeutung dieser OH-Gruppen und allgemein in die Beeinflußbarkeit sympaticomimetischer Amine durch UVB zu erwarten. Die Methodik der Bestrahlung war dieselbe wie in unseren früheren Untersuchungen[1, 2].

Versuchsergebnisse.

Ephedrin.

Nach Ewing und Mitarbeitern[3] soll Ephedrin (1‰ige Lösung von Sulfat oder Chlorid) nach einer 90 Minuten dauernden UVB den Blutdruck

* Für die Überlassung dieser Körper sind wir der I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft zu Dank verpflichtet.

[1] Konzett, H., u. W. Weis: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 440 (1939). — [2] Konzett, H.: Ebenda **198**, 355 (1941). — [3] Ewing, P. L., Blickensdorfer, P., u. H. A. Mc Guigen: J. Pharmacol. (Am.) **43**, 125 (1931).

des Hundes senken. Wir haben verschieden lang bestrahlte l- und d-Ephedrin- sowie l- und d-Pseudo-Ephedrinlösungen (1 : 1000) am Blutdruck von Hunden und Katzen geprüft und bei erstmaliger Injektion nie einen Blutdruckabfall beobachtet. Die Lösungen verfärbten sich durch die Bestrahlung wohl hellgelb bis gelbbraun und nahmen einen beißenden, scharfen Geruch an, waren aber am Blutdruck zunächst immer pressorisch wirksam. Selbst nach 6—10stündiger Bestrahlung ergab die erste Injektion eine deutliche Blutdrucksteigerung; ein direkter Vergleich mit der Wirkung einer unbestrahlten Ephedrinlösung war deshalb erschwert, weil die Wirkung einer zweiten Injektion durch die „Tachyphylaxie" an sich abgeschwächt wird. Jedenfalls ergaben aber auch lang bestrahlte Lösungen Blutdruckanstiege, die hinsichtlich Ausmaß und Form in der Regel kaum von denen unbestrahlter Lösungen zu unterscheiden waren. Diese Beobachtungen und die Feststellung, daß auch bestrahlte Lösungen Tachyphylaxie hervorrufen, erlauben den Schluß, daß Ephedrin durch UVB nicht merklich zerstört wird.

Oxyephedrine.

Wir untersuchten die drei Oxyephedrine: ortho-, meta- und para-Oxyephedrin, die von Schaumann ausführlich geprüft und beschrieben wurden[4]. Durch die Bestrahlung kommt es zu einer deutlichen Verfärbung der Lösung. Schon nach einer halben Stunde ist ein rötlicher Farbton zu bemerken, der bei weiterer Bestrahlung besonders bei ortho- und meta-Oxyephedrin dunkler und schließlich bräunlich wird. Gleichzeitig trüben sich die Lösungen von o- und m-Oxyephedrin und bilden schließlich dunkle Niederschläge. Bestrahlte m-Oxyephedrinlösungen nehmen dabei einen intensiven, an Phenol erinnernden Geruch an.

Blutdruckwirkung.

Die bestrahlten Lösungen prüften wir vergleichend mit unbestrahlten Lösungen am Blutdruck dekapitierter Katzen. Nichtbestrahlt bewirken alle drei Oxyephedrine eine Blutdrucksteigerung; die Wirksamkeit von o-Oxyephedrin entspricht etwa der von Ephedrin; p- und besonders m-Oxyephedrin sind blutdruckwirksamer. Durch UVB nimmt die Blutdruckwirkung von m- und besonders von p-Oxyephedrin erheblich zu, die von o-Oxyephedrin dagegen bleibt unverändert (s. Abb. 1).

Wenn es durch UVB auch hier zu ähnlichen Oxydationsvorgängen gekommen ist wie bei Sympatol, das ja auch ein Oxyphenylderivat ist, so kann durch Anlagerung einer zweiten OH-Gruppe nur aus p- und m-Oxyephedrin das pressorisch stärker wirksame 3, 4-Dioxyephedrin entstanden sein. Bei o-Oxyephedrin ist wegen der Stellung der Hydroxylgruppe eine solche chemische Umwandlung unmöglich.

---

[4] Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 127 (1931).

Ob der aus p- und m-Oxyephedrin durch UVB gebildete pressorisch wirksamere Körper tatsächlich 3, 4-Dioxyephedrin sei, ließ sich pharmakologisch nicht mit Sicherheit feststellen, da von dieser Verbindung keine biologischen Wirkungen bekannt sind, die eine klare Unterscheidung gegenüber ähnlichen Körpern ermöglichen würden. Dies gilt insbesondere für die Blutdruckwirkung, aber auch für das Verhalten nach Ergotamin oder Cocain.

Trotzdem sprechen manche Befunde für eine Identität des unter UVB entstehenden Körpers mit 3, 4-Dioxyephedrin, in erster Linie die

Blutzuckerwirkung.

Während die Oxyephedrine auch in hohen Dosen (10 mg/kg) keine Blutzuckersteigerung, sondern manchmal sogar eine Senkung bewirken, kommt es nach Dioxyephedrin schon in kleineren Dosen (1 mg/kg) zu einer Erhöhung des Blutzuckers. Wenn also durch die UVB Dioxyephedrin entstanden war, mußten bestrahlte p- oder m-Oxyephedrinlösungen eine Blutzuckersteigerung auslösen, o-Oxyephedrinlösungen hingegen trotz UVB wirkungslos bleiben.

Wir prüften an Kaninchen, die 18 Stunden vorher gehungert hatten, den Einfluß bestrahlter Oxyephedrinlösungen auf den Blutzucker nach der Methode von Hagedorn-Jensen. Zur Bestrahlung verwendeten wir Lösungen 1 : 1000; davon wurden je 10 mg/kg subcutan verabreicht. Um bessere Resorptionsbedingungen zu schaffen, wurde die verhältnismäßig große Flüssigkeitsmenge an verschiedenen Körperstellen injiziert.

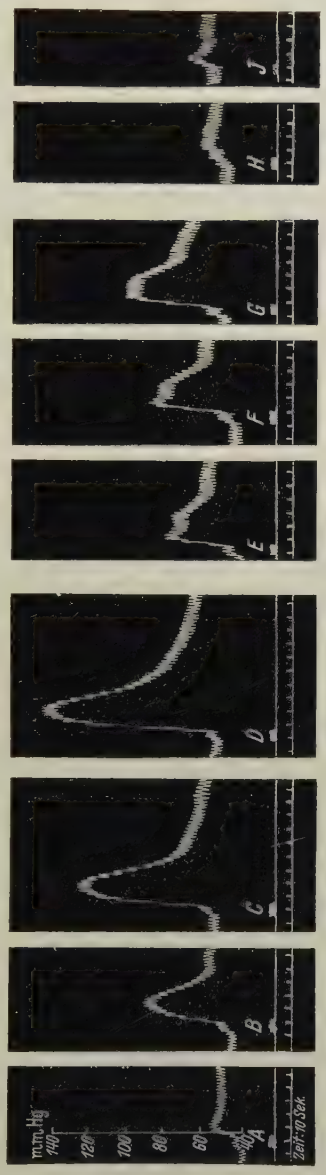


Abb. 1. Katze, 2,3 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. femoralis. Zeitschreibung: 10 Sekunden. Alle Injektionen intravenös. Lösungen 1:1000. — A: 1 mg p-Oxyephedrin unbestrahlt. Beachte die starke Wirkungszunahme derselben Dosis nach 120 (B), 180 (C) und 300 (D) Minuten Ultravioletbestrahlung. — E: 1 mg m-Oxyephedrin unbestrahlt. Durch Ultravioletbestrahlung kommt es ebenfalls zu einer Wirkungssteigerung; vgl. die Wirkung der gleichen Dosis, die 60 (F) bzw. 180 (G) Minuten bestrahlt worden war. — H: 1 mg o-Oxyephedrin. Nach 240 Minuten Ultravioletbestrahlung (J) ist keine Wirkungszunahme zu beobachten.

Es zeigte sich, daß durch die Bestrahlung die p-Oxyephedrinlösung stark blutzuckerwirksam geworden war. 10 mg/kg erhöhten nach 1- bis 2stündiger Bestrahlung den Blutzucker schon um 20—30%; länger bestrahlte Lösungen waren noch wirksamer. So kam es nach 9stündiger Bestrahlung zu einer Blutzuckersteigerung von fast 100% (s. Abb. 2A). Diese Wirkung entspricht etwa der von 2 mg 3, 4-Dioxyephedrin.

Bestrahlte m-Oxyephedrinlösungen erhöhten den Blutzucker ebenfalls, jedoch nicht in so starkem Maße wie bestrahlte p-Oxyephedrinlösungen (vgl. Abb. 2B).

o-Oxyephedrinlösungen zeigten trotz UVB keine blutzuckersteigernde Wirkung.

Zwischen der Blutzucker- und Blutdruckwirkung bestrahlter Oxyephedrine besteht somit eine auffallende Übereinstimmung: p- und m-Oxy-

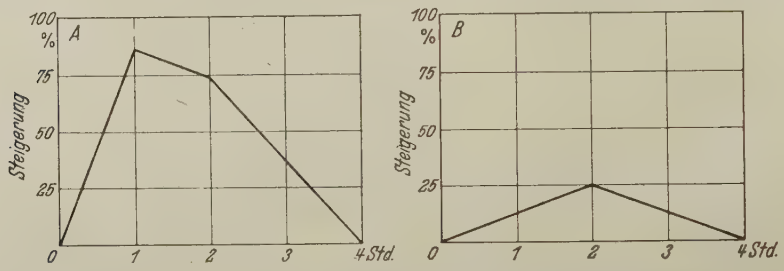


Abb. 2. Blutzuckerwirkung von 10 mg p-Oxyephedrin (A) und 10 mg m-Oxyephedrin (B) nach 9 Stunden Ultraviolettbestrahlung an zwei Kaninchen.
Ordinate: % Steigerung. Abszisse: Zeit nach der subcutanen Injektion.

ephedrin gewinnen durch UVB an Wirkungsstärke, o-Oxyephedrin dagegen bleibt unverändert.

Bei lange fortgesetzter Bestrahlung gingen diese Wirkungsunterschiede wieder verloren; wir konnten dies an verdünnteren Lösungen (z. B. 1 : 5000 5 Stunden bestrahlt) im Blutdruckversuch eindeutig nachweisen. Bei Konzentrationen von 1 : 1000 ist auch nach 15stündiger Bestrahlung noch keine Wirkungsabnahme, sondern vielmehr eine Wirkungszunahme der bestrahlten Lösung feststellbar.

Bestrahlung in Stickstoffatmosphäre.

Wir untersuchten in der Folge, ob auch bei Bestrahlung unter Sauerstoffabschluß p- und m-Oxyephedrinlösungen an Wirksamkeit gewännen. Zu diesem Zwecke bestrahlten wir die Lösungen in Stickstoffatmosphäre (s. Methodik [1], S. 441).

Die Prüfung der so behandelten Lösungen, die sich nur zart rosa verfärbten und keinen Niederschlag bildeten, ließ am Blutdruck und Blutzucker keinerlei Wirkungszunahme erkennen.

Diox- und Dioxynorephedrin.

Zur Beurteilung einer Wirkungsänderung dieser beiden Körper durch UVB verglichen wir wie in den eben beschriebenen Versuchen die Beeinflussung von Blutdruck und Blutzucker vor und nach der Bestrahlung.

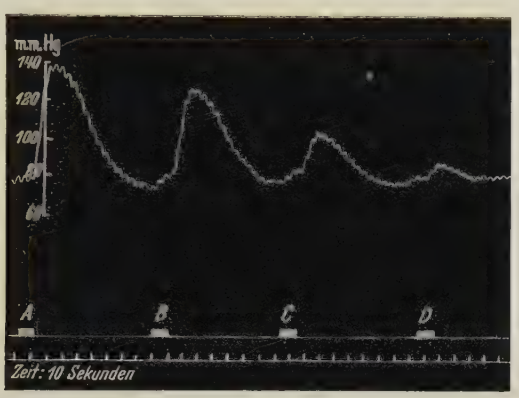


Abb. 3. Katze, 2 kg. Versuchsanordnung wie bei Abb. 1.
A: 200 γ 3, 4-Dioxyephedrin (1 : 5000) unbestrahlt. Die Wirkung der gleichen Dosis ist nach 2 (B), 4 (C), 6 (D) Stunden Ultraviolettbestrahlung in zunehmendem Maße abgeschwächt.

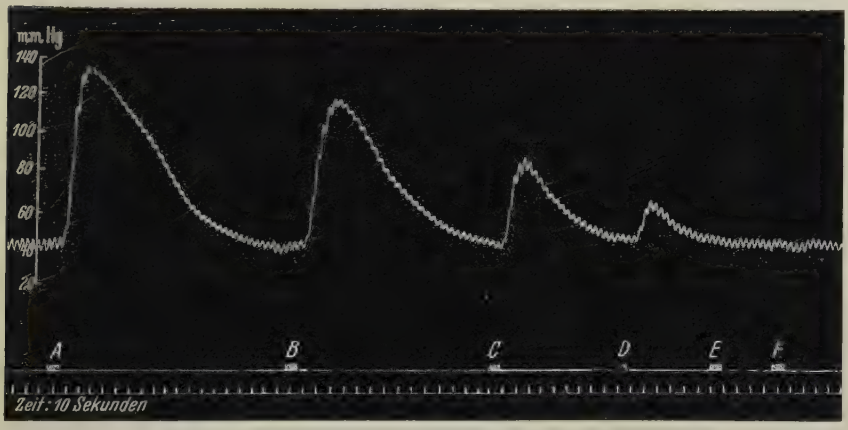


Abb. 4. Katze, 2,2 kg. Versuchsanordnung wie bei Abb. 1.
A: 30 γ 3, 4-Dioxynorephedrin (1 : 10000) unbestrahlt. Beachte die Wirkungsabnahme derselben Dosis nach 2 (B), 4 (C), 6 (D) und 9 (E) Stunden Ultraviolettbestrahlung; nach 9 Stunden Bestrahlung sind sogar 100 γ (F) wirkungslos.

Durch UVB verfärben sich die Lösungen beider Körper, die bei Stehenlassen an der Luft schon rot werden, zunächst ebenfalls rot, später gelb und werden schließlich farblos.

3, 4-Dioxyephedrin, das in kleinen Dosen depressorisch wirkt, löst bei höherer Dosierung reine Blutdrucksteigerungen aus. Bestrahlte Lösungen (1 : 5000, 1 : 10000) verlieren diese Wirkungen. Das zeigt Abb. 3;

die Wirkungsabnahme nach 2-, 4- und 6stündiger Bestrahlung ist klar ersichtlich.

3, 4-Dioxynorephedrin, eine dem Adrenalin isomere Verbindung, ist stärker blutdruckwirksam als 3, 4-Dioxyephedrin; wie dieses verliert es unter Ultraviolettlicht seine Wirkung. Abb. 4 veranschaulicht den Wirkungsverlust einer Lösung 1 : 10000 bei fortgesetzter Bestrahlung; konzentriertere Lösungen (1 : 5000) bedürfen einer länger dauernden Bestrahlung zur gleichen Wirkungsabnahme.

Lösungen von Diox- und Dioxynorephedrin verlieren durch die Bestrahlung auch ihre stark ausgeprägte Wirkung auf den Blutzucker; so steigert 1 mg Dioxyephedrin den Blutzucker nach Schaumann um etwa 75—80%, 1 mg Dioxynorephedrin sogar um 200%[4]. Diese Werte konnten wir bestätigen. 9 Stunden ultraviolettbestrahlte Lösungen waren in gleichen Dosen völlig wirkungslos.

Bestrahlung in Stickstoffatmosphäre.

Es lag nun nahe zu untersuchen, ob die Zerstörung der Dioxyephedrine durch UVB auch in Stickstoffatmosphäre bei Sauerstoffabschluß erfolgen könne. Die Prüfung von 8 Stunden lang bestrahlten Lösungen, deren Verfärbung viel schwächer ist als bei Bestrahlung unter Luftzutritt, ergab gegenüber unbestrahlten Lösungen nur eine geringfügige Wirkungsabnahme.

Besprechung der Ergebnisse.

Ephedrin-, Oxy- und Dioxyephedrinlösungen werden durch UVB ganz verschieden beeinflußt.

An Ephedrinlösungen (1 : 1000) haben wir durch UVB lediglich eine Änderung der Farbe und des Geruches, am Blutdruck jedoch keine auffälligen Unterschiede gegenüber unbestrahlten Lösungen festgestellt. Jedenfalls haben wir nach UVB nie blutdrucksenkende Wirkungen beobachtet, wie sie Ewing und Mitarbeiter beschreiben[3]. Die vier Isomeren verhielten sich gleichsinnig. Ein exakter Wirkungsvergleich stößt allerdings gerade bei Ephedrin wegen der Tachyphylaxie und der individuellen Reaktionsverschiedenheit auf große Schwierigkeiten. Da jedoch auch sehr lang bestrahlte Ephedrinlösungen Blutdruckanstiege auslösten, die sich hinsichtlich Form und Höhe nicht von den bekannten Ephedrinkurven unterschieden und sowohl für bestrahlte wie unbestrahlte Lösungen eine Tachyphylaxie einleiteten, halten wir den Schluß für berechtigt, daß UVB keine merkliche Wirkungsänderung von Ephedrinlösungen bedingt.

Das dem Ephedrin in der Wirkung am nächsten stehende Oxyephedrin, das ortho-Oxyephedrin, erfährt nun ebenfalls durch die UVB nur eine Änderung der Farbe und eine Trübung, seine Reaktionen auf Blutdruck und Blutzucker werden dadurch aber nicht beeinflußt.

Anders verhält es sich mit meta-Oxyephedrin. Außer Farb- und Geruchsänderung lassen sich eine deutlich merkbare Verstärkung der Blutdruckwirkung und eine Blutzuckersteigerung beobachten, die unbestrahlten Lösungen nicht zukommen.

Noch deutlicher und auffälliger wird der Effekt einer UVB an para-Oxyephedrinlösungen. Unbestrahlt wirkt p-Oxyephedrin schwächer als m-Oxyephedrin, ultraviolett bestrahlt aber bedeutend stärker. Es kommt zu kräftiger Blutdruckerhöhung und ausgeprägter Blutzuckersteigerung. Auffällig und für die Deutung wichtig ist, daß bei genügend langer Bestrahlungsdauer, die bei niederen Konzentrationen früher erreicht ist als bei höheren, die anfängliche Wirkungszunahme wieder verschwindet, daß demnach die durch UVB entstandene wirksamere Substanz wieder zerstört wird. Dieser Befund leitet zu den Dioxyephedrinen über.

Diese Körper, 3, 4-Dioxyephedrin, und 3, 4-Dioxynorephedrin, werden nämlich durch UVB zerstört. Das geht deutlich aus der Blutdruck- wie aus der Blutzuckerwirkung hervor.

Ein Vergleich der hier dargelegten Befunde mit den in früheren Arbeiten mitgeteilten über die UVB an Adrenalin, Sympatol sowie an ihren Derivaten ergibt eine weitgehende Übereinstimmung. Durch UVB entsteht aus dem Methylaminoäthanol-p-oxyphenyl (= Sympatol) zunächst das entsprechende 3, 4-Brenzkatechin (= Adrenalin), das bei weiterer Bestrahlung zerstört wird. Durch Eingriffe in der Seitenkette (Anfügen anderer Alkylreste am Aminostickstoff an Stelle der Methylgruppe) dargestellte Sympatol- und Adrenalinderivate, wie „Isopropylsympatol" und „Äthyl- bzw. Isopropyladrenalin", weisen unter UVB eine ähnliche Wirkungsänderung auf wie die Ausgangssubstanzen Sympatol und Adrenalin: aus „Isopropylsympatol" entsteht ein wirksamerer Körper, der bei langdauernder Bestrahlung wieder zerstört wird und höchstwahrscheinlich als „Isopropyladrenalin" angesprochen werden muß, während „Äthyl- und Isopropyladrenalin" ihre Wirkung verlieren. Durch die UVB kommt es also bei diesen Körpern zu oxydativen Umsetzungen in dem Sinne, daß durch die Anlagerung einer zweiten OH-Gruppe am Benzolkern in 4-Stellung zur Seitenkette neue wirksame Körper entstehen bzw. daß Körper mit zwei OH-Gruppen am Benzolkern leicht zerstört werden.

Bei den Ephedrinderivaten ist der Vorgang anscheinend ähnlich; aus Methylaminopropanol-p-oxyphenyl (= p-Oxyephedrin) und in etwas geringerem Ausmaß auch aus Methylaminopropanol-m-oxyphenyl (= m-Oxyephedrin) entsteht durch UVB ein wirksamerer Körper, der am wahrscheinlichsten das entsprechende Brenzkatechinderivat, also 3, 4-Dioxyephedrin ist. Offenbar erfolgt die Anlagerung einer OH-Gruppe in 4-Stellung (bei p-Oxyephedrin) leichter als in 3-Stellung (bei m-Oxyephedrin). Die entsprechende Orthoverbindung aber bleibt trotz UVB in der Wirkung unverändert. Dieser Befund fügt sich gut in unsere Annahme ein, da aus diesem Körper wegen der Anordnung seiner Hydroxylgruppe

in Ortho-Stellung kein 3, 4-Dioxyephedrin entstehen kann. Auch die Tatsache, daß bei genügend langer Bestrahlung diese wirksameren neuen Körper wieder zerstört werden, stimmt mit dem Verhalten von Dioxyephedrin (und Dioxynorephedrin) überein, die diesbezüglich wieder ihre Gemeinsamkeit mit Adrenalin erweisen.

Zu allen geschilderten Umsetzungen ist die Anwesenheit von Sauerstoff erforderlich; in Stickstoffatmosphäre kommt es zu keiner Wirkungszunahme der Oxyephedrine und die Dioxyephedrine zeigen nach 8- bis 9stündiger Bestrahlung nur geringfügige Wirkungsabnahmen. Auch hierin ergibt sich eine Parallele mit Sympatol und Adrenalin sowie ihren Derivaten. Offenbar bleiben also durch UVB, soweit biologisch feststellbar, Phenylalkylamine ziemlich unverändert, Oxyphenylalkylamine werden zunächst in die entsprechenden Dioxyphenylalkylamine umgewandelt, Dioxyphenylalkylamine aber werden zerstört. Die Seitenkette scheint bei diesen Körpern für diese Umsetzungen ohne besondere Bedeutung zu sein.

Zusammenfassung.

1. Ephedrinlösungen erfahren durch Ultraviolettbestrahlung (UVB) keine merkliche Veränderung ihrer pressorischen Wirkung.

2. Oxyephedrine werden durch UVB verschieden beeinflußt: ortho-Oxyephedrinlösungen werden verfärbt und trübe, ihre Wirkung bleibt aber unverändert; meta- und para-Oxyephedrinlösungen zeigen nebst Farbänderungen eine Zunahme ihrer Blutdruck- und Blutzuckerwirkung. Bei genügend langdauernder Bestrahlung verschwindet diese Wirkungszunahme wieder.

3. 3, 4-Dioxy- und 3, 4-Dioxynorephedrin verlieren durch UVB an Blutdruck- und Blutzuckerwirksamkeit.

4. Die beschriebenen Umwandlungen in wirksamere bzw. unwirksame Lösungen sind weitgehend an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden, da sie bei UVB in Stickstoffatmosphäre nicht oder nur in abgeschwächtem Maße auftreten.

5. Es wird auf das grundsätzlich gleiche Verhalten verschiedener Oxyphenylalkylamine (Oxyephedrine, Sympatol, Isopropylsympatol) bzw. Brenzkatechinalkylamine (Adrenalin, Äthyl- und Isopropyladrenalin, 3, 4-Dioxy- und 3, 4-Dioxynorephedrin) gegenüber UVB hingewiesen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westf. Wilhelm-Universität Münster.
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle.)

Über die Wirksamkeit der Cholinesterase im intakten Herzmuskel des Warmblüters und ihre Beeinflußbarkeit durch verschiedene Pharmaka, besonders die Narkotica.

Von
H. Genuit und K. Labenz.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 17. September 1941.)

Wie eine ganze Reihe von Arbeiten [1–5] aus jüngster Zeit zeigt, besteht zur Zeit das Bestreben, den Wirkungsmechanismus der Cholinesterase im Körper unter normalen Bedingungen und unter der Wirkung verschiedener Pharmaka zu klären. Aus methodischen Gründen erfolgten diese Untersuchungen zumeist an der im Serum oder im Vollblut vorhandenen Esterase, oder es wurde die A.Ch.-spaltende Eigenschaft von Gewebsextrakten untersucht. Es ist nun zu vermuten, daß die Untersuchung von Gewebsextrakten nicht unbedingt ein richtiges Bild von der Esterasewirkung in dem betreffenden Organ gibt, wie sie dann vorhanden ist, wenn sich das Organ noch unversehrt im Verband des Körpers befindet. Werden doch bei der Herstellung der Extrakte die für die Wirkung des sog. Potentialstoffes Acetylcholin so wichtigen Zellgrenzflächen zerstört.

Den Verhältnissen im Körper kommt man näher, wenn man die Esterasewirkung statt im Extrakt im künstlich durchströmten Organ untersucht. Dadurch können bei Erhaltung der Zellgrenzflächen eine Reihe von Faktoren ausgeschaltet werden, die eine weitergehende Analyse des Wirkungsmechanismus der Cholinesterase am Ganztier verhindern. Vor allem kann bei der Durchströmung mit einer Salzlösung die Blutesterase ausgeschaltet werden. Die Tatsache, daß die Zellgrenzflächen intakt bleiben, kann vielleicht auch eine Rolle spielen bei der Beeinflußbarkeit der Esterase durch verschiedene Pharmaka. Weiterhin könnte auf Grund derartiger Untersuchungen Stellung genommen werden zu der Frage nach der Möglichkeit einer Verschiebung von Esterase aus dem Gewebe ins Blut bzw. die Durchströmungsflüssigkeit, eine Frage, die neuerdings durch die Arbeiten von Zinnitz aufgeworfen wurde [2].

---

[1] Zinnitz, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 316, 440 (1940). — [2] Zinnitz, F., u. Ed. Rentz: Ebenda **195**, 329 (1940). — [3] Rentz, Ed.: Ebenda **196**, 148 (1940). — [4] Heim u. Fahr: Ebenda **195**, 59 (1940). — [5] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1934); **235**, 393 (1935).

Quantitative Untersuchungen über die Esterasewirkung an isolierten, künstlich durchströmten Warmblüterorganen sind meines Wissens in der Literatur bisher nicht angegeben. Eine Methodik, die solche Untersuchungen auszuführen gestattet, wurde von Genuit[6] früher beschrieben. Sie wurde mit kleinen Abänderungen auch für diese Versuche benutzt. Als Versuchsobjekt erscheint das Herz besonders interessant, weil hier die Wirkung des Vagus bzw. seines Überträgerstoffes des A.Ch. von besonderer Wichtigkeit ist.

Methodisches.

Die Versuche wurden in der Zeit von Januar bis April an Kaninchenherzen mit einem Gewicht von 5,8—11,9 g ausgeführt. Die Herzen stammten von ausgewachsenen Tieren verschiedener Rassen mit einem Körpergewicht von 1700—2700 g.

Vorversuche zeigten, daß die A.Ch.-spaltende Eigenschaft des Herzpräparates vom Coronarminutenvolumen abhängig war (vgl. Tabelle 1). Da die von uns angewandten A.Ch.-Dosen von 2—5 γ und die Mengen der verschiedenen Narkotica in einer Zahl von Versuchen eine deutliche Änderung der Coronardurchströmung bewirkten, war es wahrscheinlich, daß schon hierdurch Beeinflussung der A.Ch.-spaltenden Wirkung des Präparates zustande kommen konnten, die mit einer direkten Hemmung des Fermentes nichts zu tun zu haben brauchten. Diese Fehlermöglichkeit wurde durch Konstanthaltung des Coronarminutenvolumens auch bei verschiedener Gefäßweite ausgeschaltet. Diese Konstanthaltung wurde durch eine besondere Einschaltung des bereits in der früheren Anordnung vorgesehenen Kipptrichters erreicht (vgl. Genuit[6]). Der bisher benutzte Nebenweg vom Hauptgefäß zum Trichter wurde für die Dauer des Versuchs abgeklemmt (durch Stromschluß des zugehörigen Magneten). Der an dem Kipptrichter angebrachte Kontakt wurde dazu benutzt, zwei elektromagnetisch betätigte Ventile zu steuern. Wenn das Coronarminutenvolumen kleiner war als die Pumpenleistung, sank das Niveau im Trichter, dieser kippte nach oben und bewirkte durch den Kontakt die Öffnung des Einlaßventiles, durch das O_2-CO_2-Gemisch vermehrt in das System einströmte und den auf der Durchströmungsflüssigkeit lastenden Druck erhöhte. Automatisch damit gekoppelt war die Schließung eines Auslaßventils, das die Verbindung vom System zum druckregulierenden Wasserventil unterbrach (damit die Höhe des Druckes einen Wert von etwa 150 mm Quecksilbersäule nicht überstieg, war ein Hg-Sicherheitsventil eingebaut). Wird durch die geschilderte langsame Steigerung des Systemdruckes der Coronardurchfluß allmählich größer als die Pumpenleistung, so kippt bei ansteigendem Niveau der Trichter nach unten und bewirkt Schließung des Einlaß- und Öffnung des Auslaßventils. Der Druck sinkt dann langsam auf den durch das Wasserventil bestimmten Wert. Der

[6] Genuit, H., u. H. Wagner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 523 (1940).

Coronardurchfluß schwankt somit um einen Mittelwert, der der Pumpenleistung entspricht. Die Pumpenleistung wurde wie früher durch Verwendung eines Zentrifugalregulators am Motor konstantgehalten.

Bei der Isolierung des Herzens wurde wie in früheren Versuchen vorgegangen. Als Narkoticum diente Urethan (1 g/kg Körpergewicht intravenös). Nach Einbinden der Kanüle in die Aorta wurde die Oberfläche des Herzens sorgfältig von Blutresten freigespült. Um sicher zu sein, daß alles Blut aus dem Herzen herausgespült war, wurde das Herz nach Anschluß an die Durchströmungsapparatur etwa 15—20 Minuten aus der Vorratsflasche gespeist. In dieser Zeit hatten sich auch konstante Verhältnisse in bezug auf Schlagfolge und Amplitude eingestellt.

Die Systemfüllung betrug in allen Fällen 20 ccm. Das Herz wurde im Anschluß an jeden Versuch gewogen und ebenfalls die aus dem Herzen in Filtrierpapier abdrückbare Flüssigkeit. Die Konzentration der verschiedenen zugesetzten Pharmaka wurde berechnet auf Systemfüllung (= 20 ccm s. o.) und Herzgewicht und Gewicht der aus dem Herzen abgedrückten Flüssigkeit. Da die beiden letzteren Größen während des Versuches nur annähernd geschätzt werden konnten, konnte eine genaue Berechnung der Konzentrationen der zugesetzten Pharmaka erst nach dem Versuch erfolgen. Daraus erklärt sich das teilweise Abweichen der Konzentration von ganzen Zehnerpotenzen.

Versuchsverlauf.

Nach der oben beschriebenen Leerperiode wurde das Herz auf Durchströmung im geschlossenen Kreislauf umgeschaltet und 2—5 γ A.Ch. zugesetzt. Nach genau 10 Minuten wurde das Herz wieder auf einfache Durchströmung aus der Vorratsflasche geschaltet und die Systemflüssigkeit am Blutegel auf ihren A.Ch.-Gehalt ausgewertet. Die A.Ch.-Menge richtete sich danach, ob nach 10 Minuten langer Einwirkung der Gewebsesterase so viel A.Ch übrigblieb, daß die Konzentration am Blutegel gut auswertbar war. Die A.Ch.-spaltende Wirkung der Herzpräparate und die Empfindlichkeit der Blutegel war so gleichmäßig, daß die A.Ch.-Gabe nur in den obigen Grenzen abgestuft zu werden brauchte. War die geeignete A.Ch-Menge ermittelt, so wurde dieser Versuch noch 1—2mal wiederholt, um die Konstanz der Esterasewirkung des Präparats zu prüfen. Diese erwies sich bei konstantem Coronarminutenvolumen als bemerkenswert gleichmäßig (vgl. Tabelle 3—7). Darauf wurde eine geeignete Menge der verschiedenen Pharmaka 10 Minuten lang in geschlossenem Kreislauf einwirken gelassen, im Anschluß daran die Esterasewirkung wie oben geprüft. Die Durchströmungsflüssigkeit wurde dabei nicht gewechselt, so daß die verschiedenen Pharmaka auch während der Zerstörung des A.Ch. anwesend waren. Nach dem Versuch mit Zusatz des Narkoticums wurde nach einer Auswaschperiode von 10—30 Minuten die normale Esterasewirkung erneut geprüft, um zu sehen, ob der hemmende Effekt auswaschbar war.

Das Blutegelpräparat wurde in der üblichen Weise (nach Führer[7], Minz[8]) hergestellt und mit Physostigmin 1 : 500000 sensibilisiert. Eine Eichkurve wurde angelegt mit A.Ch.-Konzentrationen, die eine geometrische Reihe mit dem Faktor 1,41 bildeten. Zwischen den Prüfungen der verschiedenen Proben aus den Esteraseversuchen wurden Kontrolleichungen vorgenommen, um Schwankungen der Empfindlichkeit des Blutegels zu erkennen. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß die Pharmaka in den bei unseren Versuchen angewandten Konzentrationen die A.Ch-Wirkung am Blutegel nicht beeinflußte, wenn einige Vorsichtsmaßregeln beachtet wurden. So war es wichtig, den p_H konstant zu halten. Die auszuwertenden Proben wurden durch Zugabe von 1 Teil Aqua dest. zu 4 Teilen der Probe kaltblüterisotonisch gemacht.

Die Berechnung des nach 10 Minuten im System vorhandenen Restes von A.Ch. wurde nach folgendem Ansatz durchgeführt: Die A.Ch.-Konzentration der 4 : 5 verdünnten Probe wurde am Blutegel zwischen zwei Eichwerte, die sich um 40% unterschieden, eingeschachtelt und geschätzt. Sie betrug z. B. 1 : 225 Millionen. Bei einer zur Auswertung etwa nötigen Verdünnung der Probe im Verhältnis 1 : 12 und einem Gesamtvolumen des Systems Herz + Flüssigkeit von beispielsweise 30 ccm ergaben sich

$$\frac{30}{225} \cdot \frac{5}{4} \cdot 12 = 2{,}0\,\gamma \text{ A.Ch.}$$

Versuchsergebnisse.

I. Vorversuche.

Da bei der beschriebenen Methodik von der Entnahme der Probe bis zu ihrer Auswertung am Blutegel eine gewisse Zeit mit der Verdünnung und Abkühlung verging, war die Frage zu klären, ob in dieser Zeit das bei Entnahme vorhandene A.Ch. noch weiter zerstört wurde. Zu diesem Zwecke wurde mehrfach eine solche Probe möglichst schnell nach ihrer Entnahme und einige Stunden später auf ihren A.Ch.-Gehalt ausgewertet. Eine Abnahme der Wirkung war in keinem Falle festzustellen. Danach dürfte auch in der kurzen Zeit, von der Entnahme bis zur ersten Auswertung, keine Abnahme stattfinden. Diese Versuche bestätigen bereits bei anderer Gelegenheit erhobene Befunde und zeigen, daß bei unserer Anordnung Gewebsesterase in wirksamer Form nicht in die Durchströmungsflüssigkeit übertritt. Die von Zinnitz und Rentz[2] gemachte Beobachtung, daß am Ganztier Esterase aus dem Gewebe in das Blut übertreten kann, können wir somit für das Herz in unserer Anordnung nicht bestätigen. Es wäre also — mit dem Vorbehalt, daß am Ganztier infolge des Vorhandenseins zentraler Regelung die Verhältnisse anders

[7] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 44, 81 (1918). — [8] Minz, B.: Ebenda **168**, 292 (1932).

liegen können — zu folgern, daß das Herz an der Vermehrung der Blutesterase nicht beteiligt ist.

Die Angaben in der Literatur über die Wirkung des A.Ch. auf das Coronarsystem des isolierten Herzens sind widersprechend. Wedd und Fenn[9] stellten am Kaninchenherzen mit hohen A.Ch.-Konzentrationen eine Verengerung fest. Smith, Miller und Graber[10] sahen mit einer ähnlichen Methode Erweiterungen. In unseren Versuchen waren sowohl Verengerungen wie Erweiterungen zu beobachten, und zwar beides zu verschiedenen Zeiten am gleichen Präparat. Da bei der bisherigen Anordnung das Coronarsystem mit konstantem Druck durchströmt wurde, äußerten sich die Änderungen der Coronarweite in entsprechenden Änderungen des Coronarminutenvolumens. Da solche Minutenvolumenänderungen möglicherweise die A.Ch.-spaltende Wirkung des Präparates beeinflussen konnten, wurde das Minutenvolumen künstlich durch verschieden hohe Einstellung des Durchströmungsdruckes verändert und dabei jeweils der A.Ch.-Rest nach 10 Minuten bestimmt. Das Minutenvolumen wurde mit Hilfe der früher beschriebenen Tamponkanüle[6] gemessen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.
Einfluß des Coronarminutenvolumens auf die Esterasewirkung.

Vorgelegte Dosis A. Ch. γ	Rest nach 10 Min. γ	Coronar-Min.-Volumen ccm
5	0,45	11,9
5	0,67	6,1
5	1,56	4,4

Es zeigt sich tatsächlich eine beträchtliche Abhängigkeit der Esterasewirkung vom Minutenvolumen in dem Sinne, daß dem kleineren Minutenvolumen die geringere Esterasewirkung entspricht. Eine strenge Proportionalität war dabei nicht festzustellen. Um dies endgültig sagen zu können, ist allerdings die Zahl der Versuche zu klein. Da eine genauere Klarstellung dieser Verhältnisse nicht im Rahmen der vorliegenden Arbeit lag, wurde auf weitere Versuche in dieser Richtung bisher verzichtet. Die Fehlermöglichkeit durch Coronarminutenvolumen-Änderungen wurde dagegen durch die oben beschriebene methodische Änderung ausgeschaltet. Die mit dieser Anordnung erhaltenen Normalwerte der Esterasewirkung schwankten nur in bemerkenswert engen Grenzen, wie aus den Tabellen 3—7 ersichtlich ist.

Zur Vervollständigung unserer Kenntnisse über die Wirkungsbedingungen der Esterase in unserem Herzpräparat untersuchten wir den Einfluß der Temperatur auf die Esterasewirkung des Herzens. Wie Tabelle 2

[9] Wedd u. Fenn: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 365 (1933). — [10] Smith, Miller u. Graber: Amer. J. Physiol. **77**, 1 (1926) (zitiert nach Gaddum: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe, S. 55. Leipzig 1936).

Tabelle 2. Einfluß der Temperatur auf die Esterasewirkung.

Temperatur °C	Vorgelegte A. Ch.-Dosis γ	Rest nach 10 Min. γ	Temperatur °C	Vorgelegte A. Ch.-Dosis γ	Rest nach 10 Min. γ
37	2	0,30	27	2	0,62
33	2	0,39	24	2	0,81
30	2	0,44	37	2	0,32

zeigt, ist die Abhängigkeit der Esterasewirkung von der Temperatur sehr deutlich. Die Wirkung ist, wie zu erwarten, bei niedriger Temperatur geringer als bei hoher. Die Esterasehemmung durch Erniedrigung der Temperatur war vollkommen reversibel. Diese Befunde entsprechen denen von Galehr und Plattner[11], welche fanden, daß die Esterase des menschlichen Blutes bei Temperaturen von 20 und 40° C verschieden stark wirksam ist.

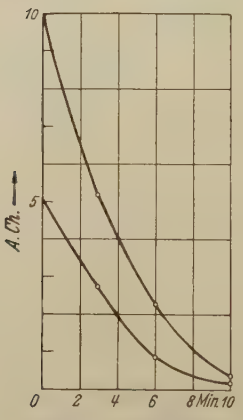


Abb. 1. Zerstörungskurve verschiedener A. Ch.-Mengen durch den intakten Herzmuskel.

Die Kenntnis der Möglichkeit, die Esterasewirkung durch Temperatursenkung zu vermindern, schien uns von methodischer Bedeutung zu sein. War damit doch eventuell die Möglichkeit gegeben, aktivierende Wirkungen, die nach Heim und Fahr[4] geringe Konzentrationen von verschiedenen Narkotica auf das Ferment ausüben sollen, besser zur Darstellung zu bringen (vgl. später).

Die Angaben in der Literatur (Galehr und Plattner[11], Freundlich[12] u. a.) bekunden übereinstimmend, daß die Kurve, die die Menge des zerstörten A.Ch. in Abhängigkeit von der Zeit darstellt, die einer Exponentialfunktion ist. Es war zu erwarten, daß die Befunde, die mit Blutesterase und Gewebsbrei angestellt worden waren, sich auch in unserer Anordnung in ähnlicher Weise finden würden. Wie die Kurven der Abb. 1 zeigen, konnte durch den Versuch diese Annahme bestätigt werden.

Wie Galehr und Plattner[11] feststellen, finden sich große Unterschiede hinsichtlich des Blutesterasegehaltes bei den verschiedenen Tierarten. Govaerts, Cambier und van Dooren[13], stellten fest, daß zwischen Tieren derselben Art und sogar beim selben Tier unter verschiedenen Bedingungen Unterschiede im Blutesterasegehalt auftreten, was von Ammon[5] bestätigt wurde.

Bei unseren Versuchen sahen wir ebenfalls Unterschiede in der Esterasewirkung unserer Herzpräparate, besonders wenn man Kaninchen ver-

[11] Galehr u. Plattner: Pflügers Arch. **218**, 488, 506 (1928). — [12] Freundlich: Capillarchemie, S. 236. Leipzig 1922. Zitiert nach Kodera, Y.: Pflügers Arch. **219**, 182 (1928). — [13] Govaerts, Cambier u. van Dooren: C. r. d. Biol. **108**, 1178 (1931).

schiedener Rassen vergleicht. Innerhalb der gleichen Rasse waren die Schwankungen geringer.

II. Wirkung von Physostigmin und Prostigmin auf die Esterase.

Der spezifisch hemmende Einfluß von Physostigmin auf die Esterase ist seit langem bekannt (Loewi und Navratil[14], Plattner und Hintner[15], Engelhart und Loewi[16] u a.). Eine ähnlich starke Wirkung wurde für das Prostigmin von Feldberg und Rempel[17] beschrieben.

E. und E. Stedman[18] konnten zeigen, daß die hemmende Wirkung dieser beiden Stoffe mit ihrem urethanartigen Charakter zusammenhängt, und daß andere Urethane, von noch einfacherem Aufbau ebenfalls die Esterase hemmen. Die Ansicht darüber, welcher der beiden Stoffe die stärker hemmende Wirkung besitzt, gehen auseinander. Straub und Scholz[19] halten auf Grund ihrer Befunde die hemmende Wirkung des Physostigmins (Ph.) für stärker. Ammon[5] vertritt die gegenteilige Meinung.

Wir suchten an unserem Präparat für beide Stoffe die Grenzkonzentration, die völlig hemmte. Die Befunde sind in Tabelle 3 niedergelegt. Sie zeigen, daß Ph. in einer Konzentration 1 : 3 Millionen anfängt zu hemmen.

Tabelle 3.

Versuch Nr.	Menge γ	Konzentration	A. Ch. γ Zusatz	A. Ch. γ Rest nach 10 Min.	Kontrolle Rest nach 10 Min. γ
		Prostigmin.			
1	0,03	1 : 1000000000	3	0,21	0,18—0,21
	0,10	1 : 300000000	3	0,43	
	0,30	1 : 100000000	3	0,82	
	0,60	1 : 50000000	3	1,22	
2	0,3	1 : 100000000	3	0,41	0,14—0,19
	1,0	1 : 30000000	3	2,10	
	3,0	1 : 10000000	3	2,33	
	10,0	1 : 3000000	3	2,50	
3	25,0	1 : 1000000	5	4,37	0,23—0,25
	83,0	1 : 300000	5	4,53	
	250,0	1 : 100000	5	4,77	
		Physostigmin.			
	10,0	1 : 3000000	3	0,26	0,2—0,23
	30,0	1 : 1000000	3	0,46	
	100,0	1 : 300000	3	1,29	
	300,0	1 : 100000	3	2,91	
	1000,0	1 : 30000	3	2,98	

[14] Loewi u. Navratil: Pflügers Arch. **214**, 676 (1926). — [15] Plattner u. Hintner: Ebenda **225**, 19 (1930). — [16] Engelhart u. Loewi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **150**, 1 (1930). — [17] Feldberg u. Rempel: Ebenda **170**, 560 (1933). — [18] Stedman, E., u. E.: Biol. J. **25**, 1147 (1931). — [19] Straub, W., u. J. Scholz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 332 (1936).

Prostigmin* dagegen zeigt die gleiche Wirkung schon bei einer Konzentration von 1 : 300 Millionen. Dieses Wirkungsverhältnis von 1 : 100 für die beginnende Hemmung verringert sich für vollständige Hemmung auf 1 : 10. Physostigmin hemmt nach den vorliegenden Versuchen in Bestätigung früherer Ergebnisse vollkommen in einer Konzentration von 1 : 100000. Prostigmin zeigt die gleiche Wirkung schon bei 1 : 1 Million. Bei unseren Versuchen konnten wir die in der Literatur [20] bekannte Tatsache bestätigen, daß das Prostigmin in der die Esterase völlig lähmenden Konzentration noch keinerlei Wirkung auf das isolierte Herz ausübt, während das Physostigmin in der entsprechenden Konzentration bereits eine beträchtliche negativ-inotrope und negativ-chronotrope Herzwirkung besitzt.

Die Hemmung der Esterase nach Ph. wie nach Prostigmin war durch Auswaschen des Herzens mit Ringerlösung in kurzer Zeit (15—20 Minuten) vollständig zu beheben.

III. Wirkung verschiedener Narkotica auf die Esterase.

Nach den kürzlich mitgeteilten Befunden nach Heim und Fahr [4] haben verschiedene Narkotica ebenfalls die Eigenschaft, die A.Ch.-Esterase des Blutes zu hemmen. Die Wirkung tritt bei verhältnismäßig hohen Konzentrationen auf, während dieselben Mittel in niedrigen Konzentrationen zum Teil eine Verstärkung der Fermentwirkung hervorrufen. Wir prüften, ob sich diese Befunde auch in unserer Anordnung erheben ließen. Das Urethan schien uns nach dem oben über den Urethancharakter der spezifisch hemmenden Stoffe Ph. und Prostigmin Gesagten, besonders interessant. (Die Tabelle 4 zeigt die mit diesem Stoff erzielten Ergebnisse.)

Es zeigt sich, daß auch mit sehr hohen Konzentrationen (1 : 95) eine völlige Hemmung nicht zu erreichen ist. Die höchst erreichbare Hemmung bestand darin, daß nach 10 Minuten statt normalerweise 5 -7%, unter Urethan (1 : 190—1 : 95) etwa 50% des anfangs zugesetzten A.Ch. noch vorhanden war. Eine Fermentaktivierung mit niedrigen Konzentrationen bis 1 : 11000 war nicht festzustellen.

Noch wesentlich schwächer, wenn auch deutlich nachweisbar, war die hemmende Wirkung des Harnstoffs (vgl. Tabelle 4), von dem sich das Urethan ableitet. Eine hemmende Wirkung begann bei der Konzentration 1 : 1100 deutlich zu werden. Sie konnte bei weiterer Steigerung der Konzentration auf 1 : 95 nicht wesentlich erhöht werden.

Gerade beim Harnstoff wurde nach Heim und Fahr [4] eine Fermentaktivierende Wirkung beobachtet, die mit der Fähigkeit des Harnstoffs, das Gefüge der Eiweißkörper zu lockern, erklärt wird. Wir haben uns

---

* Der Firma Hoffmann La Roche danken wir für die Überlassung von Versuchsmengen von Prostigmin und Azetylcholin.

[20] Pritchard u. Walker: J. Physiol. (Brit) **84**, 35P (1935); Berk, L., Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 642 (1932); Aeschlimann, J. u. Marc Reinert: J. Physiol. (Brit.) **43**, 413 (1931).

Tabelle 4.

Versuch Nr.	mg	Konzentration	A. Ch. γ Zusatz	A. Ch. γ Rest nach 10 Min.	Kontrolle Rest nach 10 Min. γ
		Urethan.			
1	2,5	1 : 11000	5	0,35	0,25
	7,5	1 : 3700	5	0,41	
	25,0	1 : 1100	5	0,47	
	75,0	1 : 370	5	0,7	
	150,0	1 : 190	5	2,33	
2	75,0	1 : 370	3	0,39	0,18—0,19
	150,0	1 : 190	3	0,47	
	300,0	1 : 95	3	1,4	
		Harnstoff.			
1	7,5	1 : 3700	5	0,32	0,23—25
	25,0	1 : 1100	5	0,5	
	75,0	1 : 370	5	0,64	
2	75,0	1 : 370	3	0,26	0,16—0,18
	150,0	1 : 190	3	0,35	
	300,0	1 : 95	3	0,63	
3	3,0	bei 37° C 1 : 10000	3	0,19	0,19
	10,0	1 : 3000	3	0,19	
	30,0	1 : 1000	3	0,21	
	0,1	bei 24° C 1 : 300000	3	0,47	0,47
	0,3	1 : 100000	3	0,54	
	1,0	1 : 30000	3	1,18	
	3,0	1 : 10000	3	1,31	

deshalb besonders beim Harnstoff bemüht, diesen Effekt kleiner Konzentrationen zu erhalten.

In der Erwartung, daß eine durch Herabsetzung der Temperatur in ihrer Wirksamkeit gehemmte Esterase, vielleicht besser auf aktivierende Einflüsse ansprechen würde, untersuchten wir die Wirkung niedriger Konzentrationen nicht nur bei 37° C, sondern auch bei 24° C, aber auch bei dieser Modifikation wurden bis herunter zu Konzentrationen von 1 : 100000 entweder keine oder hemmende Wirkung gefunden. Die Hemmung trat bei 24° C schon bei Konzentration von 1 : 30000 deutlich in Erscheinung.

In ganz analoger Weise wurden nun noch folgende Narkotica auf ihre Esterasebeeinflussung untersucht: Veronal-Na, Evipan-Na, Chloralhydrat. Außerdem wurden der Amylalkohol und der Äthylalkohol untersucht.

Wie aus den Tabellen 5—8 zu ersehen ist, üben auch diese Stoffe eine mehr oder weniger starke hemmende Wirkung auf die Esterase aus. Ein aktivierender Einfluß kleiner Konzentrationen konnte auch hier nicht festgestellt werden.

In Anbetracht der zahlreichen Einzelergebnisse schien es uns günstig zu sein, die wichtigsten Befunde in einer Übersichtstabelle (Tabelle 8) zusammenzufassen. Als markanter Punkt erschien uns einmal die Konzentration, die eben eine deutliche Hemmung der Esterase bewirkte und

Tabelle 5.

Versuch Nr.	Menge mg	Konzentration	A. Ch. γ Zusatz	A. Ch. γ Rest nach 10 Min.	Kontrolle Rest nach 10 Min. γ
		Veronal-Na.			
1	3,0	1:10700	3	0,44	0,31—0,4
	10,0	1: 3200	3	0,57	
	30,0	1: 1070	3	0,66	
	90,0	1: 360	3	0,88	
	180,0	1: 180	3	1,2	
2	1,0	1:29000	2	0,58	0,6—0,54
	3,0	1: 9700	2	0,66	
	10,0	1: 2900	2	0,91	
	30,0	1: 970	2	1,28	
	100,0	1: 290	2	1,58	
		Evipan-Na.			
1	0,6	1:51000	3	0,23	0,2—0,23
	3,0	1:10300	3	0,3	
	10,0	1: 3100	3	0,58	
	30,0	1: 1030	3	0,91	
2	0,3	1:97000	2	0,56	0,66—0,54
	1,0	1:29000	2	0,73	
	3,0	1: 9700	2	0,87	
	10,0	1: 2900	2	0,98	
	30,0	1: 970	2	1,26	

Tabelle 6.

Versuch Nr.	Menge mg	Konzentration	A. Ch. γ Zusatz	A. Ch. γ Rest nach 10 Min.	Kontrolle Rest nach 10 Min. γ
		Chlorhydrat.			
1	0,3	1:93000	2	0,35	0,3—0,35
	1,0	1:28000	2	0,41	
	3,0	1: 9300	2	0,50	
	10,0	1: 2800	2	0,66	
	30,0	1: 930	2	0,97	
		Iso-amylalkohol.			
1	0,03	1:1070000	3	0,38	0,4—0,44
	0,10	1: 320000	3	0,44	
	0,30	1: 107000	3	0,80	
	1,00	1: 32000	3	1,26	
	3,00	1: 10700	3	1,77	
2	3,0	1: 10000	3	0,87	0,19—0,21
	10,0	1: 3000	3	0,89	
	30,0	1: 1000	3	1,40	

weiter die stärkste in unseren Versuchen erreichte Hemmung. Diese wurde in Prozent angegeben. Die prozentuale Hemmung wurde folgendermaßen berechnet: Von der anfangs zugesetzten A. Ch.-Menge wurde der ohne Pharmaka verbleibende Rest subtrahiert. Die Differenz stellt die normale

Tabelle 7. Äthylalkohol.

Versuch Nr.	Menge mg	Konzentration	A. Ch. γ Zusatz	A. Ch. γ Rest nach 10 Min.	Kontrolle Rest nach 10 Min. γ
1	0,3	1 : 100000	3	0,18	0,17—0,19
	1,0	1 : 30000	3	0,37	
	3,0	1 : 10000	3	0,38	
	10,0	1 : 3000	3	0,38	
	30,0	1 : 1000	3	0,56	
	100,0	1 : 300	3	2,00	
	300,0	1 : 100	3	2,05	
2	0,3	1 : 97000	2	0,28	0,25—0,34
	1,0	1 : 29000	2	0,36	
	3,0	1 : 9700	2	0,45	
	10,0	1 : 2900	2	0,60	
	30,0	1 : 970	2	0,78	
	100,0	1 : 290	2	0,84	
	300,0	1 : 97	2	0,99	

Tabelle 8.

	Konzentration	Wirkung auf die Esterase	Wirkung auf das Herz	Narkotische Konzentration	Hemmung der Esterase durch narkotische Konzentration
Veronal-Na	1 : 10700	beginn. Hemmung	(−)	1 : 7000	etwa 5—10%
	1 : 180—290	30—70% „	− −		
Evipan-Na	1 : 29000	beginn. „	(−)	1 : 70000	∅
	1 : 970	50% „	− −		
Chloral-hydrat	1 : 28000	beginn. „	∅	1 : 3000	20%
	1 : 930	62% „	−		
Urethan	1 : 11000	beginn. „	∅	1 : 1000	5%
	1 : 95	44% „	−		
Amylalkohol	1 : 107000	beginn. „	∅	(1 : 6000)	(30%)
	1 : 1000	44% „	− −		
Äthylalkohol	1 : 30000	beginn. „	∅	1 : 300	32—65%
	1 : 100	40—66% „	− −		
Harnstoff	1 : 3700	beginn. „	+	−	−
	1 : 95	16% „	+		

A. Ch.-Zerstörung dar, die das Herzpräparat in 10 Minuten bewirkt. Eine 40%ige Hemmung soll nun bedeuten, daß unter der gleichzeitigen Einwirkung des Narkoticums nur 60% der normalen Menge zerstört worden sind. Auf die sonst bei Fermentwirkungen üblichen Bestimmungen der Halbwertzeiten wurde verzichtet, weil dazu ein größeres Tiermaterial erforderlich gewesen wäre.

In der vierten Spalte ist die Wirkung dieser Konzentration auf das isolierte Herz angegeben. Das Zeichen + bedeutet Vergrößerung der Amplitude; ∅ bedeutet keine Wirkung; (−) bedeutet geringe Verkleinerung

und Verlangsamung; – bedeutet Verlangsamung und starke Verkleinerung der Amplitude; — — bedeutet diastol. Herzstillstand.

Weiter schien es besonders wichtig, die Esterasehemmung mit der narkotischen Konzentration in Beziehung zu bringen. Die Werte für die narkotischen Konzentrationen wurden den Arbeiten von Klimesch[21] und von Kochmann[22] entnommen, zum Teil unter Umrechnung der pro kg angegebenen Dosen in Konzentrationen. Aus den Tabellen 4—7 wurde in analoger Weise wie für die dritte Spalte die Hemmung für die narkotischen Konzentrationen errechnet und in die letzte Spalte der Tabelle 8 eingetragen. Der Vergleich zwischen narkotischer Konzentration und der dieser Konzentration zukommenden Esterasehemmung zeigt, daß beim Veronal-Na, Evipan-Na und Urethan in vollnarkotischer Konzentration kaum eine nennenswerte Beeinflussung der Esterase vorliegt. Beim Chloralhydrat ist sie dagegen schon sehr deutlich und bei Äthylalkohol in ganz beträchtlichem Maße vorhanden.

Interessant ist vielleicht auch ein Vergleich der esterasehemmenden mit der oxydationshemmenden Wirkung der Narkotica. Aus den Arbeiten, besonders von Warburg[23] und Mitarbeitern, ist bekannt, daß für eine etwa 50%ige Hemmung des Sauerstoffverbrauchs von verschiedenen Geweben bzw. Zellen Konzentrationen der Narkotica erforderlich sind, die das Mehrfache der narkotischen Konzentration betragen. Das entspricht ganz unseren Befunden über den hemmenden Einfluß auf die Esterase, bei der auch erst mit Konzentrationen, die weit über der narkotischen liegen, etwa 50% Hemmung erzielt werden kann.

Diese Befunde scheinen auf den ersten Blick in Widerspruch zu den Ergebnissen von Heim und Fahr[4] zu stehen, die aus ihren Befunden eine erhebliche Hemmung der Esterase bei allen Narkotica ablesen. Bei näherer Betrachtung erweist sich dieser Widerspruch jedoch als scheinbar. Er erklärt sich aus dem unterschiedlichen Auswertungsverfahren. Heim und Fahr betrachten ausschließlich den am Ende der Auswertungszeit von 10 Minuten noch vorhandenen Rest von A.Ch., ohne diesen in Beziehung zu der anfangs zugegebenen Menge A.Ch. zu setzen. So scheint denn in ihrer Abb. 1 die Gabe von 0,2 mg Chloralhydrat eine außerordentlich starke Hemmung des A.Ch.-Abbaus in einer Blutprobe zu bewirken. Versucht man, diesen Befund nach unserer Methode auszuwerten, so ändert sich das Bild sehr wesentlich. Ohne Zusatz von Chloralhydrat ist von den anfangs zugesetzten 3,0 γ A.Ch. noch soviel vorhanden, daß es bei der mit Chloralose narkotisierten Katze einen Blutdruckabfall von 10 mm Hg hervorruft. Wird 0,2 mg Chloralhydrat zugesetzt, so bewirkt der A.Ch.-Rest nach 10 Minuten eine Blutdrucksenkung von 60 mm Hg. Leider

[21] Klimesch, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 14 (1933). — [22] Kochmann: Heffters Handb. exper. Pharmak. **1**, 409, 358; Ergebn.-Bd. **2**, 244. — [23] Warburg, O.: Z. physiol. Chem. **66**, 305; **69**, 452; **70**, 413; **71**, 479; Pflügers Arch. **144**, 465; **155**, 547.

sind Eichwerte mit bekannten A.Ch.-Mengen nicht mit angegeben. Nach den Versuchen von Gremels und Zinnitz[24], Zinnitz[25] und Schröder[26], die unter gleichen Versuchsbedingungen (Chloralosenarkose) A.Ch.-Wirkungen auf den Blutdruck der Katze prüften, dürften diese Blutdrucksenkungen bei einer mittleren Empfindlichkeit des Präparates A.Ch.-Dosen von etwa 0,02—0,2 γ entsprechen. Das bedeutet, daß ohne Chloralhydrat 2,98 γ A.Ch. und mit Chloralhydrat 2,8 γ in 10 Minuten zerstört werden. Die Verseifung unter Chloralhydrat beträgt demnach 94% des normalen Wertes, d. h. es liegt nach unserer Auswertung eine 6%ige Hemmung vor. Die Konzentration des Chloralhydrates geht aus den Angaben von Heim und Fahr nicht hervor, da nicht gesagt ist, in welcher Flüssigkeitsmenge das A.Ch. gelöst wurde. Nach der Versuchsanordnung ist vielleicht anzunehmen, daß das A.Ch. ebenso wie die Narkotica in 0,1 ccm gelöst waren. Dann würde sich daraus eine Konzentration von 1 : 1500 für das Chloralhydrat berechnen, eine Konzentration, die sicher vollnarkotisch wirkt.

Größenordnungsmäßig entsprechen also die Befunde von Heim und Fahr hinsichtlich der hemmenden Wirkung des Chlorhydrats auf die Esterase, den von uns erzielten Ergebnissen. Die kleinen Unterschiede können unseres Erachtens dadurch erklärt werden, daß es sich bei Heim und Fahr um Blut handelt, das bekanntlich mehr Esterase enthält als die Gewebe (vgl. Ammon[5]), eine Tatsache, die auch durch einen Vergleich unserer Befunde mit denen von Heim und Fahr bestätigt wird, da 0,1 ccm Blut in 10 Minuten mindestens ebensoviel A.Ch. zerstört wie ein Kaninchenherz von 8—10 g.

Die Einwirkung der übrigen von Heim und Fahr untersuchten Stoffe ist sicher nicht als stärker anzunehmen als die des Chloralhydrats, da sich solch große Unterschiede der blutdrucksenkenden Wirkung der Probe nach 10 Minuten mit und ohne Narkoticum in den übrigen Abbildungen nicht wiederfinden — eine Tatsache, die mit unseren Befunden übereinstimmt.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die Einwirkung der Narkotica nicht so hochgradig ist, wie Heim und Fahr sie aus ihren Versuchen ablesen. Eine weitere Frage wäre die, ob solche Änderungen der Esterasewirksamkeit genügen, um als Erklärung für die bei Narkosen beobachteten Erscheinungen von verstärktem Vagustonus herangezogen werden zu können. Experimentell belegte Anhaltspunkte liegen dafür unseres Wissens noch nicht vor.

Eine Frage drängte sich uns im Laufe unserer Untersuchungen noch auf, die uns von besonderer Wichtigkeit zu sein schien. Sie betrifft die Rolle der Zellmembran bei unseren Versuchen und soll hier kurz angedeutet werden.

---

[24] Gremels, H., u. F. Zinnitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 230 (1935). — [25] Zinnitz, F.: Ebenda **182**, 345 (1936). — [26] Schröder, W.: Ebenda **195**, 698 (1940).

Wir gehen aus von der für das isolierte, mit Ringerlösung durchströmte Herz, sicherlich richtigen Vorstellung, daß sich die Esterase nur im Innern der Zelle befindet. Wenn nun einer der von uns untersuchten Stoffe eine völlige Abdichtung der Zellmembran verursacht hätte, so hätte das zur Folge gehabt, daß das zugesetzte A.Ch. nicht in die Zelle hätte eindringen können. Es wäre nicht mit der Esterase in Berührung gekommen und wäre in der Durchströmungsflüssigkeit unzersetzt geblieben. (Ein Austritt von Esterase in die Durchströmungsflüssigkeit erfolgt ja nach unseren Befunden nicht.) Eine solche membrandichtende Wirkung wird von Gremels[27] zur Erklärung der Physostigminwirkung mit herangezogen und für die Narkotica ist eine solche Wirkung durchaus denkbar. Die Stoffe brauchten in diesem Falle gar keine eigentlich hemmende Wirkung auf das Ferment zu besitzen, um es in seiner Wirkung zu blockieren. Eine vollständige Membrandichtung wurde bisher in unseren Versuchen nicht gefunden. In einem solchen Falle hätte der nach unserem Ansatz (vgl. S. 372) berechnete A.Ch.-Rest größer sein müssen als die anfangs zugesetzte Menge, da der Ansatz auf der Voraussetzung beruht, daß sich das A.Ch. auf Herz und Flüssigkeit gleichmäßig verteilt. Eine teilweise Abdichtung der Zellmembran könnte jedoch theoretisch jeden Grad einer Fermenthemmung vortäuschen. Untersuchungen, um diese Frage zu klären, sind im Gange. Besondere Aufschlüsse erwarten wir von der Untersuchung des Atropins unter den genannten Gesichtspunkten da bei diesem Stoff eine starke Membrandichtung angenommen wird (Straub[27], Gremels[28]), eine Hemmung der Esterase dagegen nicht bekannt ist.

IV. Wirkung von Tetanustoxin auf die Esterase.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit von Göpfert und Schäfer[29] „Über den Mechanismus des Wundstarrkrampfes" schließen diese Autoren auf eine Mitbeeinflussung der A.Ch.-Esterase des Skeletmuskels. Diese Folgerungen werden gezogen aus Beobachtungen von Änderungen im Aktionsstrombild des peripheren Nerven und der Nervenendplatte unter dem lokalen Einfluß von Tetanustoxin. Da in unserem Herzpräparat eine Methode vorlag, die es erlaubte, die von Göpfert und Schäfer indirekt bewiesene Esterasehemmung durch Tetanustoxin durch den direkten Nachweis zu ergänzen, wurde das Tetanustoxin in entsprechender Weise wie die bisherigen Stoffe untersucht. Die Verdünnung erfolgt ebenso wie bei Göpfert und Schäfer mit einer frisch bereiteten 0,25%igen Witte-Peptonlösung in Jensenschem Phosphatpuffer.

Es zeigt sich, daß schon bei einer Endverdünnung im System Herz + Durchströmungsflüssigkeit von 1 : 300 Millionen eben eine deutliche

[27] Gremels, H.: Ergebn. Physiol. usw. **42**, 88ff. (1939). — [28] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 148 (1907). — [29] Göpfert, H., u. H. Schäfer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 93 (1940).

Tabelle 9. Tetanustoxin.

Versuch Nr.	Menge γ	Konzentration	A. Ch. γ Zusatz	A. Ch. γ Rest nach 10 Min.	Kontrolle Rest nach 10 Min. γ
1	0,003	1 : 10000000000	3	0,50	0,47—0,7
	0,300	1 : 100000000	3	1,31	
	3,000	1 : 10000000	3	1,41	
	30,000	1 : 1000000	3	2,02	
	300,000	1 : 100000	3	2,11	
	3000,000	1 : 10000	3	2,5	
2	0,03	1 : 1000000000	2	0,39	0,28—0,38
	0,10	1 : 300000000	2	0,42	
	0,30	1 : 100000000	2	0,54	
	1,00	1 : 30000000	2	0,63	
	3,00	1 : 10000000	2	1,15	
	10,00	1 : 3000000	2	1,44	
	30,00	1 : 1000000	2	1,74	
	100,00	1 : 300000	2	1,88	
	300,00	1 : 100000	2	1,97	
	1000,00	1 : 30000	2	2,21	

Hemmung zu bekommen war, die mit Erhöhung der Konzentration entsprechend höher wurde. Eine völlige Hemmung wurde mit einer Endverdünnung von 1 : 300000 erreicht. Die starke esterasehemmende Wirkung von Tetanustoxin* kann somit im direkten Nachweis bestätigt werden.

Dieser Befund bedeutet, daß es sich beim Tetanustoxin um den Stoff handelt, der die Esterase bisher am stärksten hemmt. Die Verdünnungen des konzentrierten Toxins, die eine beginnende und eine völlige Hemmung des Ferments bewirken, entsprechen fast genau den Verdünnungen von Prostigmin, das wir als bisher stärkst wirksamen Stoff kennengelernt haben. Nun ist die Verdünnung des Toxins aber nicht wie bei Prostigmin auf die Substanz bezogen, sondern auf eine mehr oder weniger konzentrierte Lösung. Es ist darum anzunehmen, daß — bezogen auf die Substanz — die hemmende Wirkung des Tetanustoxins noch um ein Vielfaches größer ist als die des Prostigmins**.

---

* Der Firma „Behringwerke, Marburg" danken wir auch an dieser Stelle für die Überlassung einer Versuchsmenge eines konzentrierten Toxins, dessen dlm, bezogen auf die weiße Maus von 15 g, 0,00002 betrug.

Anmerkung während der Korrektur: Neuerdings angestellte Versuche mit der gleichen Versuchsmenge des Tetanustoxins, die seit etwa sechs Monaten im Eisschrank aufbewahrt wurde, ließen eine esterasehemmende Wirkung nicht mehr erkennen. Nach orientierenden Versuchen hatte die Toxizität für die weiße Maus nicht wesentlich abgenommen. Ein Versuchsfehler hat s. Z. sicher nicht vorgelegen. Das isolierte Verschwinden der esterasehemmenden Wirkung ist nach den bisher vorliegenden Versuchsergebnissen noch nicht zu klären.

Zusammenfassung.

Am nach Langendorff isolierten Kaninchenherzen, das im geschlossenen System mit Ringer-Lockelösung durchströmt wurde, konnte die Wirksamkeit und Beeinflußbarkeit der Esterase im intakten Herzmuskelgewebe geprüft werden.

Es wurde festgestellt, daß eine Verschiebung von Esterase aus dem Gewebe in die Durchströmungsflüssigkeit nicht stattfindet.

Die Geschwindigkeit der A.Ch.-Spaltung ist abhängig vom Coronarminutenvolumen und von der Temperatur.

Der zeitliche Verlauf der Fermentreaktion hat exponentiellen Charakter.

Durch geringe Konzentrationen der spezifisch wirkenden Stoffe Prostigmin und Physostigmin wird die Esterase völlig gehemmt. Das Prostigmin ist dabei etwa zehnfach stärker wirksam als das Physostigmin.

Durch verschiedene Narkotica: Veronal-Na, Evipan-Na, Chloralhydrat, Urethan, durch Äthyl- und Isoamylalkohol sowie durch Harnstoff wird die Esterase ebenfalls gehemmt. Die Hemmung ist selbst in hohen Konzentrationen nicht vollständig. In den narkotischen Konzentrationen ist die Hemmung verhältnismäßig schwach.

Tetanustoxin wirkt schon in außerordentlich kleinen Konzentrationen hemmend auf die Gewebsesterase des isolierten Kaninchenherzens. In einer Verdünnung von 1 : 1 Million bis 1 : 300000 ist die Hemmung vollständig.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.)

Die Cholinesterase im anaphylaktischen Schock und dessen Beeinflußbarkeit durch Methylenblau.

Von

Ed. Rentz.

(Eingegangen am 23. September 1941.)

Bei der anaphylaktischen Reaktion des isolierten Meerschweinchenherzens stehen nach Went und Lissák[1] Manifestationen einer Vaguserregung im Vordergrund, wobei cholinartige Stoffe frei werden. Wie ferner Heim[2] in Versuchen an der Katze gefunden hat, erfahren hier die Wirkungsbedingungen für den chemischen Überträgerstoff der Vaguswirkung gleichfalls eine Förderung durch die Reinjektion. Schließlich soll nach Albus[3] auch bei Allergikern die Konzentration der Cholinesterase im Blute herabgesetzt sein. Es schien deshalb von Interesse, zunächst die eventuell durch Sensibilisierung und Reinjektion erzielbaren Änderungen der Esterasemenge am Meerschweinchen, dem klassischen Objekt für anaphylaktische Versuche, zu verfolgen.

In einer früheren Arbeit[4] ist fernerhin festgestellt worden, daß Methylenblau, sowohl im Modellversuch als auch am ganzen Tier (Katze), die Tätigkeit der Cholinesterase schon in geringer Konzentration stark zu hemmen vermag, woraus sich unter Berücksichtigung der eben zitierten Literaturangaben schließen läßt, es werde schockverstärkend wirken. Dem steht nun gegenüber, daß dieser Farbstoff gleichzeitig als atropinähnlicher Antagonist des Azetylcholins gilt (Literatur bei Rentz[4]), Atropin aber das Auftreten des anaphylaktischen Schocks bei sensibilisierten Meerschweinchen unterdrücken kann[5]. In gleicher Richtung müßte auch die von Gremels[6] angenommene Herabsetzung der Permeabilität durch Methylenblau wirken, denn nach Krausz[7] sollen diejenigen Stoffe, welche die Schwere des Schocks zu mildern imstande sind, und ebenso der Schock selbst die Permeabilität erniedrigen. Es war demnach einerseits zu erwarten, daß Methylenblau den anaphylaktischen Schock verstärken, andererseits, daß es ihn abschwächen werde. Die Aussicht, hierdurch eventuell Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus dieses Farbstoffes ziehen zu können, wurde zur Veranlassung von Versuchen über die Beein-

[1] Went, S., u. K. Lissák: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 616 (1935) u. **182**, 509 (1936). — [2] Heim, F.: ebenda **196**, 51 (1940). — [3] Albus, G.: Klin. Wschr. **1939**, Nr. 24, S. 858. — [4] Rentz, Ed.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 148 (1940). — [5] Lumière, A., u. P. Meyer: C. R. Soc. Biol., Paris **129**, 1195 (1938). — [6] Gremels, H.: Erg. Physiol. usw. **42**, 94 (1939). — [7] Krausz, G.: Boll. Ist. sieroter. milan. **16**, 118 (1937), zit. nach den Ber. Physiol. **103**, 139 (1938).

flußbarkeit des Schocks durch Methylenblau. die man anschließend an die Esteraseversuche durchführte.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen von 250—350 g Gewicht. Zur Sensibilisierung und Resensibilisierung (48 Stunden später) erhielten die Tiere je 0,1 ccm Rinderserum intraperitoneal. Die Reinjektion erfolgte am 21. Tage nach der Sensibilisierung mit 2 ccm Rinderserum wiederum in die Bauchhöhle.

Das Blut zur Bestimmung der Cholinesterase wurde den Tieren durch Einstich direkt dem Herzen entnommen (0,1 ccm einer 0,5%igen Liquoidlösung* + 0,6 ccm Blut) und zentrifugiert. Die Bestimmung erfolgte nach der gasanalytischen manometrischen Methode von Ammon[8], wonach der Gehalt der Blutproben an Cholinesterase nach dem Prinzip der Warburg-Methode festgestellt wird. Zu diesem Zwecke gab man in das Ansatzstück des Nicolai-Troges 0,3 ccm Serum, verdünnt mit Krebs-Ringer zu 2 ccm. In jeden Nicolai-Trog kamen 3 ccm einer mit Krebs-Ringer hergestellten 0,5%igen Lösung von Azetylcholinchlorid „Roche". Die Ablesung der gebildeten CO_2-Mengen erfolgte am Ende der 30. und 60. Minute. Die CO_2-Menge (in cmm) gilt als Maß für die Esterasekonzentration im untersuchten Blutserum.

Als Methode zur Messung des anaphylaktischen Schocks diente uns Pfeiffers „anaphylaktischer Temperatursturz"[9], der als Ausdruck einer tiefen Blutdrucksenkung aufzufassen ist und die Diagnose des Schocks auch beim Fehlen von Allgemeinerscheinungen gestattet.

Versuche.

a) Anaphylaktischer Schock und Cholinesterase.

Wie aus der beigefügten Tabelle (Tabelle 1) zu ersehen ist, nimmt während des anaphylaktischen Schocks, nach der Menge der gebildeten Kohlensäure zu urteilen, die Cholinesterase im Blute etwas ab, und zwar, verglichen mit Normaltieren, im Mittel aus rund 30 Versuchen, um etwa

Tabelle 1.

Normaltiere		Schocktiere		
Anzahl der Tiere	In 1 Std. gebildete CO_2-Menge in cmm	Anzahl der Tiere	Schockgröße nach Pfeiffer	In 1 Std. gebildete CO_2-Menge in cmm
7	789	7	23,255	695
8	676	6	17,200	622
7	813	6	28,752	683
6	723	7	7,577	598
5	837	5	9,582	653
Durchschnittlich: 761		—	17,461	650

* Wir danken der Firma Hoffmann-La Roche für die freundliche Überlassung des Liquoids.

[8] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933); vgl. auch die Arbeit von Rentz, Ed.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 148 (1940). — [9] Vgl. Abderhaldens Handb. biol. Arbeitsmethoden, Abt. XIII, Teil 2, Heft 1 (Lief. 19); siehe auch Rentz, Ed., u. A. Kaktin, Z. Immunit.forsch. **83**, 59 (1934).

14% (von 761 auf 650 cmm CO_2). Läßt man die durch die Reinjektion unbeeinflußt gebliebenen insgesamt 8 Tiere außer acht, so wird die durchschnittlich gebildete Kohlensäuremenge noch geringer (614 cmm), d. h. die Esterasemenge sinkt um weitere 5% ab. Eine Parallelität zwischen der Tiefe des anaphylaktischen Schocks und der Abnahme der Esterasemenge war aber nicht festzustellen. Tiere mit einer Schocktemperatur von beispielsweise 30° wiesen in vielen Fällen gleiche oder höhere Werte auf als solche mit einer Temperatur von beispielsweise 35°, so daß hier von irgendeiner Gesetzmäßigkeit nicht gesprochen werden kann.

An einer Reihe von Tieren wurde vor der Sensibilisierung und jede Woche nach dieser die Cholinesterase bestimmt, ohne daß sich ein Unterschied ergeben hätte.

Wenn eine Abnahme der CO_2-Menge einer Abnahme der Esterasemenge entspricht und diese wiederum einer Zunahme des Azetylcholins gleichkommt, dann können die Ergebnisse, wenn auch mit einiger Vorsicht, im Sinne einer durch den anaphylaktischen Schock bedingten Verschiebung des Gleichgewichts im vegetativen Nervensystem in der Richtung einer Vaguserregung gedeutet werden. Es sei aber in diesem Zusammenhang auf Versuche von Ratnoff[10] hingewiesen, wonach sich im Blute von Kaninchen während des anaphylaktischen Schocks kein Azetylcholin nachweisen ließ (Auswertung an der Blutegelmuskulatur).

b) Methylenblau und anaphylaktischer Schock.

Brachte man sensibilisierten Meerschweinchen 30—50 Minuten vor der Reinjektion verschiedene Mengen von Methylenblau intraperitoneal, intramuskulär bzw. subcutan bei, so erwies es sich fast durchweg (vgl. Tabelle 2), daß die Schockgröße unter dem Einfluß des Farbstoffes zugenommen hatte. Die nach den Literaturangaben zu erwartende atropinähnliche bzw. permeabilitätshemmende Eigenschaft des Methylenblaus, die zu einer Schockhemmung führen müßte, ließ sich demnach in unseren

Tabelle 2. Schocktiere.

Anzahl der Tiere	Schockgröße ohne Methylenblau	Anzahl der Tiere	Injizierte Methylenblaumenge	Schockgröße nach Methylenblauinjektion
6	3,870	6	1 ccm 1%ig intraperitoneal	18,615
5	16,300	5	2 ccm 2%ig intraperitoneal	23,080
6	13,329	5	5 ccm 1%ig intramuskulär	20,363
4	28,500	5	2 ccm 1%ig subkutan	33,515

[10] Ratnoff, O. D.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **40**, 471 (1939), zit. nach den Ber. Physiol. **114**, 652 (1939).

Meerschweinchenversuchen nicht erkennen. Die Erklärung für die Zunahme der Schockgröße liegt hier, wie weitere Versuche ergaben, nicht in einer Beeinflussung der Cholinesterase (darüber später), sondern in der starken Eigenwirkung des Farbstoffs auf die Körpertemperatur. Diese sinkt am normalen Tier unter Methylenblau allmählich ab und nach höheren Konzentrationen gehen die Tiere oft unter den gleichen Symptomen ein wie im anaphylaktischen Schock. Um die Stärke der Methylenblauwirkung wiedergeben zu können, benutzten wir deshalb auch hier die Maßmethode nach Pfeiffer (vgl. Tabelle 3). Die Ergebnisse waren zuweilen wider-

Tabelle 3. Normaltiere.

Ohne Methylenblau		Nach Methylenblau			
Anzahl der Tiere	In 1 Std. gebildete CO_2-Menge in cmm	Anzahl der Tiere	Methylenblaumenge	Schockgröße nach Pfeiffer	In 1 Std. gebildete CO_2-Menge in cmm
5	828	10	2 ccm 2 %ig intraperitoneal	27,404	770
6	630	6	5 ccm 2 %ig intramuskulär	6,920	629
6	577	6	5 ccm 1 %ig intramuskulär	2,005	798
3	689	5	2 ccm 1 %ig subkutan	0	699
5	767	5	1 ccm 1 %ig subkutan	0	608

sprechend, indem Methylenblaudosen, die die Körpertemperatur nicht beeinflußten, unter Umständen, vor der Reinjektion beigebracht, den Schock verstärkten und, umgekehrt, höhere Konzentrationen gelegentlich den entgegengesetzten Effekt zu haben schienen. Vergleicht man jedoch die entsprechenden Durchschnittszahlen aus sämtlichen mit und ohne Methylenblau an sensibilisierten und normalen Meerschweinchen durchgeführten Versuchen (es handelt sich um über 60 Versuchsreihen), dann zeigt es sich, daß die Verstärkung der Schockwirkung ganz einfach durch Addition derselben mit der Eigenwirkung des Methylenblaus zustandekommt (vgl. Tabelle 4) und nicht auf einer „Potenzierung" od. dgl. beruht, wie aus einzelnen Versuchsergebnissen geschlossen werden könnte.

Tabelle 4.

	Normaltiere		Schocktiere	
	ohne Methylenblau	mit Methylenblau	ohne Methylenblau	mit Methylenblau
Durchschnittliche Schockgröße	—	8,584	15,955	23,679
Durchschnittliche CO_2-Menge in cmm	751	743	659	610

Eine Beeinflussung der Esterase läßt sich als Erklärung für die Zunahme der Schockgröße unter Methylenblau nicht heranziehen. Wohl findet man (vgl. Tabellen 3 und 4 mit Tabelle 1) wieder, daß die bei den Schocktieren gebildete Kohlensäuremenge im Durchschnitt etwas niedriger liegt als bei den Normaltieren, jedoch läßt sich zwischen den im Laufe 1 Stunde aus den Blutproben entstandenen CO_2-Mengen der Methylenblautiere und der Kontrollen kein nennenswerter Unterschied feststellen. Das dem Meerschweinchenherzen eine halbe bis mehrere Stunden nach der Methylenblauinjektion (je nach dem Eintritt der Schockwirkung) entnommene Blut läßt demnach eine Beeinflussung hinsichtlich der Esterasemenge nicht erkennen, im Gegensatz zum Blute der Katze, deren Esterasemenge sich während der Dauerinfusion mit Methylenblau deutlich änderte [4].

Zusammenfassung.

1. Mit Hilfe der von Ammon angegebenen gasanalytischen, manometrischen Methode wird festgestellt, daß die Aktivität der Cholinesterase im Herzblut von Meerschweinchen während des experimentellen anaphylaktischen Schocks meist etwas (im Durchschnitt um 14%) herabgesetzt ist. Ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Esterasehemmung und der Temperatursenkung bzw. der Schockgröße (Maßmethode nach Pfeiffer) war nicht zu erkennen. Durch die Sensibilisierung allein wurde die Esterasemenge nicht verändert.

2. Methylenblau setzt die Körpertemperatur von Meerschweinchen je nach Dosis und Applikationsart mehr oder weniger deutlich herab. Im Vergleich zu den Kontrollen wird dadurch bei Methylenblautieren der anaphylaktische Schock additiv verstärkt.

3. Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei der Katze ließ sich mit der angewandten Methodik beim Meerschweinchen eine Beeinflussung der Aktivität der Cholinesterase durch Methylenblau nicht feststellen.

Aus den Pharmakologischen Instituten der Universität Frankfurt a. M. und der Medizinischen Akademie Danzig.

Messungen der analgetischen Wirksamkeit einiger Antipyretica am Hund.

Von

Werner Koll und **Georg Fleischmann***.

(Eingegangen am 5. September 1941.)

I. Einleitung und Fragestellung.

Die bisher am Tier und am Menschen angewendeten experimentellen Methoden zum Nachweis und zur Messung analgetischer Wirkungen weisen eine Anzahl von Nachteilen und Unzulänglichkeiten auf, so daß die mit ihnen erhaltenen Ergebnisse zu einer recht wechselvollen Beurteilung der Wirksamkeit mancher Analgetica führen mußten. Koll und Reffert[1] haben die Einwände, die gegen die bisherigen Methoden erhoben werden können, kurz erörtert und haben eine neue tierexperimentelle Methode zur Prüfung analgetisch wirkender Pharmaka ausgearbeitet. In der Versuchsanordnung von Koll und Reffert[1] werden am Hunde Schmerzreize durch elektrische Reizungen der Pulpa eines Zahnes gesetzt, welche zu einer typischen, als Schmerzäußerung aufzufassenden Reaktion der Tiere führen. Durch dauernde Befestigung der Reizelektroden mit Harvard-Zement in der Schmelz-Dentinschicht des Zahnes werden außerordentlich konstante physikalische Reizbedingungen geschaffen. Die Testreaktion selber ist scharf erkennbar und ihre Reizschwelle weist eine beträchtliche Konstanz auf. Unter der Wirkung analgetischer Mittel steigt die Reizschwelle an, wobei auch wiederholte Bestimmungen der Reizschwelle zum gleichen Zeitpunkt wieder sehr befriedigende Übereinstimmungen aufweisen.

Koll und Reffert haben mit dieser Methode einen Wirksamkeitsvergleich von Morphin und einigen Morphinderivaten ausgeführt. Sie erhielten bei Anwendung von nur vier Hunden Mittelwertergebnisse von sehr mäßiger Streuung. Ferner zeigten die am Hund gemessenen, auf das Morphin bezogenen relativen Wirkungsstärken der einzelnen Morphinderivate nicht nur der Reihenfolge sondern auch der Größenordnung nach eine sehr bemerkenswerte Übereinstimmung mit den klinischen Beobachtungsergebnissen am Menschen.

---

* Die Arbeit wurde von der Medizinischen Fakultät der Universität Frankfurt a. M. als Doktordissertation angenommen.

[1] Koll, W., u. H. Reffert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 687 (1938).

So sehr auch diese Resultate für eine allgemeinere Anwendbarkeit der Methode sprachen, so schien es uns doch wünschenswert, ihre Eignung auch an anderen Substanzgruppen zu erproben. Die mit den bisherigen tierexperimentellen Methoden gewonnenen Ergebnisse sind nämlich besonders uneinheitlich, wenn es sich nicht um die analgetisch hochwirksamen Substanzen mit Morphincharakter handelt, sondern um schwächer wirksame Pharmaka. Es besteht dann nicht nur Unsicherheit hinsichtlich der Wirkungsstärke, sondern oft erscheint es nach dem Tierversuch fraglich, ob überhaupt eine echte, (zentral-)analgetische Wirkung ausgelöst wird. Besonders unbefriedigend ist die Tatsache, daß öfters einem geringen oder gar negativen Ergebnis des Tierexperimentes die klinische Beobachtung einer recht guten analgetischen Wirksamkeit gegenübersteht. Diese Diskrepanz hat gerade für die außerhalb der Morphinreihe stehenden Analgetica Zweifel aufkommen lassen, ob die am kranken Menschen beobachtete schmerzstillende Wirkung überhaupt oder wenigstens zur Hauptsache auf einer Beeinflussung des zentralnervösen Vorganges der Schmerzwahrnehmung beruht (nur diese Wirkung wollen wir als „analgetische" bezeichnen), oder ob sie ganz oder teilweise auf einer Beeinflussung der Schmerzursache in der Peripherie zurückzuführen ist — eine Wirkung, welche dann als „ätiotrop", „spasmolytisch", „antiphloggistisch", usw. zu bezeichnen wäre.

Zu denjenigen schmerzstillenden Mitteln, für welche die Kenntnis ihres Wirkungsmechanismus in starkem Mißverhältnis zu dem Umfang ihres Verbrauches steht, gehören auch die Antipyretica. Mit der vorliegenden Untersuchung soll daher nach der neuen Methode von Koll und Reffert[1] mit Hilfe eines genau meßbaren und fein abstufbaren Schmerzreizes für einige Antipyretica die Frage ihrer zentralanalgetischen Wirksamkeit erneut geprüft und ihre Wirkungsstärke quantitativ ermittelt werden. Die Versuche erstrecken sich auf folgende Substanzen:

Dimethylamino-phenyl-dimethyl-pyrazolon („Pyramidon"), Phenyl-dimethyl-pyrazolon-methylamidomethan-sulfosaures Natrium („Novalgin"), Phenyl-dimethyl-pyrazolon-amido-methansulfosaures Natrium („Melubrin"); Phenyl-dimethylpyrazolon („Antipyrin"); Phenyl-methyl-isopropyl-pyrazolon (weiterhin kurz bezeichnet als „Isopropylantipyrin"), Lactyl-phenetidin („Lactophenin"), Natrium salicylicum, Acidum acetylosalicylicum („Aspirin").

II. Versuchsanordnung.

Die Anordnung und Durchführung der Versuche am Hund entsprach der von Koll und Reffert[1] gegebenen Beschreibung. Im folgenden sollen jedoch einige technische Angaben und einige Beobachtungen mitgeteilt werden, die uns geeignet erscheinen, anderen Untersuchern die An-

wendung der Methode zu erleichtern oder die früheren Beobachtungen zu erweitern.

a) Abänderungen von Einzelheiten der Versuchstechnik.

Es erwies sich als zweckmäßig, die beiden in dem oberen Eckzahn angebrachten Elektroden ein wenig weiter vom Zahnfleisch entfernt einzusetzen, als es von Koll und Reffert angegeben wurde, wobei allerdings der Abstand der Elektroden voneinander nicht zu gering werden darf. Dadurch wird nach dem Einführen der stromzuführenden Drähte die Anbringung der Isoliermasse erleichtert und ihre Haftung am Zahn sehr verbessert.

Die Anwendung der früher zur Isolierung der Reizelektroden empfohlenen „grünen Kerrmasse" kann dem in zahnärztlicher Technik Unerfahrenen Schwierigkeiten bereiten. Die Masse haftet bisweilen auf der sehr glatten Oberfläche des Hundezahnes nicht besonders fest, so daß — namentlich wenn die Hunde etwas unruhig sind — die Isolierung öfters ausgebessert werden muß. Durch die Anwendung einer neuen stärker klebenden Isoliermasse, die bei der im Maul des Hundes herrschenden Temperatur weder zu spröde noch zu weich sein durfte, wurde es sehr erleichtert, eine dauerhafte und zuverlässige Isolierung über den Elektroden zu erreichen.

Von 35 Kittmassen, die wir durch Zusammenschmelzen verschiedener Harz- und Pecharten herstellten und prüften, erwies sich die folgende Mischung als die beste:

Mastix	5,0 g
„Bergmann-Kitt"[2]	10,0 g
„Anker-Pech"[3] (Sommerware)	10,0 g

Die Substanzen werden in der angegebenen Reihenfolge in einem sehr geräumigen Blechgefäß vorsichtig zusammengeschmolzen, die heiße Masse wird in eine mit Glycerin befeuchtete Porzellanschale gegossen und vor dem völligen Erkalten mit angefeuchteten Händen zu dünnen Stangen geformt. Vor dem Auftragen auf den Zahn wird der Kitt an der Spitze der Stange bis zum Schmelzen in einer kleinen Flamme erwärmt. Vor dem Auftragen der Isoliermasse muß die Zahnoberfläche mit Zellstoff sorgfältig getrocknet werden (Abtupfen des Zahnes mit 96%igem Alkohol beschleunigt das Trocknen, ist jedoch meist nicht erforderlich). Bei wenigen Tieren haftet die Isoliermasse dann noch nicht fest genug, namentlich wenn es sich um unruhige Hunde handelt. Ein besonders festes Haften der Isoliermasse erzielten wir durch folgende Behandlung des mit Alkohol getrockneten Zahnes: Es wird eine konzentrierte, sirupartige alkoholische Kolophoniumlösung dünn aufgetragen und mit einer heißen Sonde oder Stricknadel verteilt. Dabei verdampft der Alkohol und hinterläßt auf dem Zahn eine höchst zähe, stark klebende Kolophoniumschicht. Auf die so vorbereitete Zahnoberfläche wird die in der Flamme weichgemachte Kittmasse in zwei oder drei Einzelportionen aufgebracht und jedesmal mit einer heißen Stricknadel in zweckmäßiger Weise verteilt. Derartige Maßnahmen sind jedoch nur selten erforderlich.

An diesen etwas komplizierten Vorgang der Elektrodenisolierung, der jedoch nach kurzer Übung garnicht soviel Zeit erfordert, gewöhnen sich die Hunde sehr schnell, so daß man ohne Assistenz arbeiten kann.

---

[2] Als „Röhren- und Verbindungskitt" in der Kabelindustrie verwendet. Zu beziehen von elektrotechnischen Firmen. An Stelle dieser Masse hat sich auch „Picein" als geeignet erwiesen. — [3] Ein von Schuhmachern verwendetes Gemisch von Pech, Wachs, Harz und Öl („Schusterpech").

Die neue Isolierungstechnik erwies sich als eine wertvolle Verbesserung, da wir nur selten einmal eine Lockerung der Isoliermasse während des Versuchs erlebten. Im übrigen wird ein Defekt in der Isolierung und ein Übergreifen von Stromschleifen auf Zahnfleisch und Lippenschleimhaut sehr gut in der Reaktionsweise der Tiere auf den Reiz erkennbar:

An Stelle der mehr oder weniger heftigen, drehenden Kopfbewegung tritt dann eine schreckhaft zuckende Bewegung auf.

Da unter den relativ kleinen von uns verabfolgten Antipyreticumdosen das allgemeine Verhalten der Hunde, insbesondere ihre Aufmerksamkeit auf Vorgänge in ihrer Umgebung überhaupt nicht merklich beeinflußt wurde (während unter Opiatwirkung die Tiere ziemlich gleichgültig werden), fanden wir es sehr zweckmäßig, durch Vorhänge an drei Seiten der Käfige optische Eindrücke fernzuhalten und ebenso stärkere Geräusche zu vermeiden. Wir beobachteten bisweilen, daß eine Ablenkung der Aufmerksamkeit der Hunde zu einer zwar nur kleinen, aber immerhin deutlichen Veränderung der Reizschwelle führen kann, daß also die Hunde sich darin ebenso verhalten wie Menschen (besonders Kinder).

b) Das Verhalten der Hunde bei verschiedenen Reizstärken.

In einer längeren Reihe von Vorversuchen wurden zunächst ohne Verabfolgung von Pharmaka die Reaktionen der Hunde auf Reizung der Zahnpulpa studiert, dann eine für das Symptom „Schmerz" geeignete Testreaktion ausgewählt und diese auf ständige Reproduzierbarkeit und Konstanz der Reizschwelle geprüft.

Das Verhalten der Hunde in unseren Versuchen bei der Pulpareizung stimmte in allen wesentlichen Punkten völlig mit den Beobachtungen von Koll und Reffert überein.

Bei niedriger Spannung (2—4 Volt) erhoben sich die Tiere meistens aus der im Käfig gewöhnlich eingenommenen Ruhelage, ohne jedoch schon eine auf Schmerzwahrnehmung deutende Reaktion zu zeigen. Bei einer etwas höheren Spannung (etwa 6 Volt) begann die von Koll und Reffert beschriebene „Leckreaktion", die jedoch nur bei drei von unseren fünf Hunden mit Erhöhung der Reizstärke wieder verschwand (was in den früheren Versuchen bei allen Hunden eintrat), während diese Reaktion an den zwei anderen Hunden auch bei starken Reizen ständig mit ausgelöst wurde. Etwa im Bereich von 8—15 Volt traten bei den einzelnen Tieren charakteristische Bewegungen, vorwiegend mit dem Kopf, auf, deren für jedes Individuum typische Form mit bemerkenswerter Konstanz immer wieder bei derselben Reizstärke reproduzierbar und somit als Testreaktion für das Symptom „Schmerz" geeignet war. Diese Bewegungsreaktionen bestanden in mäßig schnellem Aufreißen des Maules und langsamerer oder schnellerer Seitwärts- oder Rückwärtsbewegung des Kopfes. Einige Tiere zeigten dabei immer gleichzeitig im Rhythmus der einzelnen Reizimpulse (15 pro sec) ein oft recht grobschlägiges Auf- und Abzittern („Wackeln") des Unterkiefers, dessen reflektorischer Charakter wohl nicht zweifelhaft sein kann. Es bestätigt sich also die Angabe von Koll und Reffert, daß es nach einiger Übung möglich ist, die für jedes einzelne

Tier charakteristische Form der Reaktion so scharf zu erkennen, daß die für dieses Reaktionsbild gemessenen Reizschwellen fast dieselbe Konstanz aufweisen wie z. B. die für die sehr viel einfachere „Leckreaktion", welche möglicherweise reflektorischer Art ist. Eine gewisse weitere Steigerung der Reizintensität führt im allgemeinen nur zu einer graduellen Zunahme der einzelnen Bewegungsabläufe, ohne daß sich neue Bewegungsformen einstellen.

c) Die Testreaktion der einzelnen Versuchshunde.

Wir schicken voraus, daß die Reizschwellen der einzelnen Tiere an verschiedenen Tagen nicht immer absolut konstant waren, die Schwankungen blieben jedoch durchweg in sehr mäßigen Grenzen (vgl. die Zahlenwerte in den Tabellen 1, 3—7). Wir bestimmten deshalb vor jedem Versuch in einer halbstündigen Vorperiode in Abständen von je 10 Minuten zunächst die normale Reizschwelle.

1. Hund „Wolf" (ruhiges Tier).

Reizschwelle an verschiedenen Tagen wechselnd zwischen 10 und 15 Volt, am gleichen Tage jedoch konstant.

Testreaktion: Langsames Aufreißen des Maules (dabei leichtes „Kieferwackeln") und langsames Seitwärtsdrehen des Kopfes.

Während der Reizung bewegt sich das Tier unruhig im Käfig hin und her. Zwecks genauerer Beobachtung wurde es mit einer Halskette lose angebunden, jedoch so, daß seine Beweglichkeit, besonders die des Kopfes, nicht beeinträchtigt wurde.

2. Hund „Zampa" (ruhiges Tier).

Dieses Tier war schon zu den Versuchen von Koll und Reffert benutzt worden. Für unsere neue Versuchsreihe wurde der obere Eckzahn der anderen Seite vorbereitet und die zugehörige Oberlippenfistel angelegt. Reizschwelle: zwischen 8 und 12 Volt. Testreaktion: Lebhaftes Maulöffnen (dabei leichtes „Kieferwackeln"), Rückwärtsbewegen des Kopfes. Das Tier bleibt auch bei Reizung ruhig und läßt sich daher besonders gut beobachten.

3. Hündin „Asta" (ruhiges, aber sehr aufmerksames Tier).

Sehr empfindliches Tier. Reizschwelle zwischen 8 und 10 Volt. Testreaktion: Kräftiges Maulaufreißen, mäßig geschwinde Rückwärtsbewegung des Kopfes.

Wegen Eintritt einer Gravidität konnte das Tier gegen Ende der Versuchsperiode nicht benutzt werden, da es dann, abgesehen von der Schwierigkeit der Dosierung nach dem Körpergewicht, schon bei sehr schwachen Reizen sehr heftig reagierte.

4. Hund „Harras" (sehr ruhiges Tier, etwas scheu).

Reizschwelle: Zwischen 8 und 10 Volt. Testreaktion: Deutliche Rückwärtsbewegung des Kopfes und Aufreißen des Maules.

5. Hund „Wölfel" (ruhiges Tier, ziemlich ängstlich).

Reizschwelle zwischen 20 und 25 Volt. Die im Vergleich zu den anderen Tieren ziemlich hohe Reizschwelle dürfte in den durch den Sitz der Elektroden bedingten physikalischen Reizbedingungen ihre Ursache haben.

Testreaktion: Gerade kräftiges Maulaufreißen und Heben des Kopfes (dabei sehr deutliches „Kieferwackeln"), Bild der Testreaktion ganz besonders einheitlich.

d) Ist die Testreaktion eine Schmerzreaktion?

Es besteht keine Veranlassung, den ganzen hierher gehörenden Fragenkomplex ausführlich zu erörtern, da er gerade in der neueren Literatur[4, 5] näher behandelt wurde. Auch haben Koll und Reffert[1] noch einmal auf die grundsätzlichen Schwierigkeiten hingewiesen, die bei dem Versuch auftreten, aus dem Verhalten der Tiere Schlüsse auf Eintreten oder Ausbleiben des subjektiven Erlebnisses „Schmerz" zu ziehen. Es sind hier also nur die als Test für „Schmerz" benutzten Reaktionen nochmals kurz abzugrenzen gegen „Pseudoschmerzreflexe" und Reflexe, sowie Beobachtungen zu registrieren, welche für eine „Wahrnehmung" der Reize sprechen.

Da die von uns verabfolgten Gaben der Antipyretica keine merklichen Allgemeinwirkungen, insbesondere keine narkotischen Wirkungen auslösen, erübrigt sich eine Auseinandersetzung mit der Frage der „Pseudoschmerzreflexe". Daß in dem ganzen Bewegungsbild, welches die Pulpareizung auslöst, einzelne Bewegungen Reflexcharakter tragen, erwähnten wir bereits. Das betrifft vor allen Dingen das Wackeln des Unterkiefers, welches ganz synchron mit den einzelnen Reizimpulsen verläuft. Auffallend ist es, daß die Reizschwelle für diese Bewegung unter der Wirkung der Antipyretica zum mindesten sehr viel weniger ansteigt als diejenige für die als Testreaktion gewerteten Kopfbewegungen. Im gleichen Sinne spricht eine andere Beobachtung: Einer der Hunde führte auf einen ganz schwachen einzelnen Reizimpuls (1 Volt) eine kleine, schnappende Bewegung mit dem Maule aus. Im Schlaf oder unter Einwirkung eines Antipyreticums ergab sich für diese Reaktion keine Schwellenerhöhung. Die Argumente, welche gegen eine Auffassung der eigentlichen „Testreaktion" als Reflex geltend gemacht werden müssen, haben Koll und Reffert behandelt. Ebenso kommt eine Mißdeutung irgendwelcher Bewegungen, die etwa durch Speichelfluß oder durch eine erregende Wirkung[5] der verabfolgten Pharmaka verursacht werden, nicht in Betracht.

Andererseits scheinen uns Beobachtungen von Interesse, die für eine „Wahrnehmung" der Pulpareizung sprechen, insbesondere, wenn die verwendeten Reize noch wesentlich schwächer sind als die Schwellenreize für unsere „Schmerz"reaktion. Der bereits von Koll und Reffert benutzte Hund (♂) „Hasso" wurde in unseren Versuchen anfangs ebenfalls ver-

[4] Starkenstein, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 326, 337 (1932). — [5] Pohle, K., u. A. Nietschmann: Ebenda **188**, 619 (1938).

wendet. Die normale Reizschwelle dieses Tieres lag bei etwa 30—32 Volt (Dezember 1937 und Januar 1938). Anfang Februar 1938 wurde der Hund durch den Eintritt der Brunst bei einer Hündin im Nachbarkäfig des Stalles außerordentlich erregbar. Er reagierte jetzt bereits bei Reizen von 6 Volt und sogar noch geringeren Spannungen mit Schmerzlauten, wütendem Bellen und mit Versuchen, nach seinem eigenen Spiegelbild in den Glaswänden des Versuchskäfigs zu beißen.

Zum Schluß mag noch kurz erwähnt werden, daß nach vielfältigen zahnärztlichen Erfahrungen am Menschen jede Reizung der freigelegten Pulpa anfangs zu einer ganz geringen, nicht qualifizierbaren Sensation, dann aber gleich zu Schmerz führt. Andere Empfindungsqualitäten von seiten der Pulpa sind nicht bekannt.

e) Auflösung und Zufuhr der Antipyretica.

Der Wirkungsvergleich erfordert möglichst gleichartige Resorptionsbedingungen für die verabreichten Mittel, die deshalb immer subcutan injiziert wurden. Alle Stoffe wurden in einem Gesamtvolumen von 10 ccm wässeriger Lösung, eventuell nach Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung, appliziert. Wegen ungenügender Wasserlöslichkeit mußten dabei besondere Lösungsmethoden unter Anwendung von Lösungsvermittlern für folgende Substanzen angewendet werden: Lactophenin, Isopropylantipyrin, Aspirin und Pyramidon. Bei den einzelnen Stoffen wurde in folgender Weise verfahren:

1. Lactophenin.

Dieser Stoff war nur unter reichlicher Verwendung eines Lösungsvermittlers in Lösung zu bringen. Wir verwendeten auf 0,8 g Lactophenin 4 ccm „Exluan" (= reinstes Dioxan) + 2 ccm 25%ige Diäthanolaminlösung. Die Substanz wurde darin unter Erhitzen aufgelöst, dann 4 ccm Aqua dest. und je etwa 0,05 g Gummi arabicum und Natrium bicarbonicum zugefügt. (Ohne den $NaHCO_3$-Zusatz war die Injektion außerordentlich schmerzhaft und es traten akute Schwellungen am Injektionsort auf.) Die Lösung darf nicht unter Körpertemperatur abkühlen und wird am besten noch warm in eine mit Paraffin. liquid. dünn eingeölte Spritze aufgezogen, da sonst das Lactophenin wieder auskristallisiert.

2. Isopropylantipyrin.

Verfahren wie bei Lactophenin; die Stabilität der Lösung ist jedoch besser als bei Lactophenin (Tabelle 3, Versuch 15; Tabelle 4, Versuch 11; Tabelle 5, Versuch 15; Tabelle 6, Versuch 12). In zwei Versuchen (Tabelle 5, Versuch 16; Tabelle 6, Versuch 13) wurde ein anderer Lösungsvermittler benutzt.

3. Aspirin.

Lösung als Natriumsalz durch Neutralisation mit $NaHCO_3$ oder als Lithiumsalz durch Umsetzung mit Li_2CO_3.

4. Pyramidon.

Die Wasserlöslichkeit beträgt nur 1 : 20. Die erforderlichen stärkeren Lösungen wurden nach folgenden zwei Verfahren hergestellt:

a) 1,0 Pyramidon + 0,5 Natrium benzoicum, Aqua dest. ad 10 ccm;

b) 1,0 Pyramidon + 2 ccm Propylenglykol, Erhitzen bis zur völligen Lösung, ganz langsam 8 ccm heißes Aqua dest. zufügen. In beiden Lösungsformen hatte das Pyramidon die gleiche Wirksamkeit.

5. Phenacetin.

Es gelang uns bisher nicht, hinreichend stabile Lösungen dieses Stoffes herzustellen, so daß wir auf seine Untersuchung verzichten mußten.

Die verwendeten Lösungsvermittler Diäthanolamin, Dioxan, Natrium benzoicum und Propylenglykol ergaben weder einzeln noch kombiniert in den angegebenen Mengen einen meßbaren analgetischen Effekt. Außerdem fanden sich keine Beobachtungen, die für eine Wirkungsverstärkung der Antipyretica durch diese Substanzen sprechen.

f) Anordnung des Meßverfahrens.

Da nach den Erfahrungen von Koll und Reffert[1] die unter dem Einfluß analgetisch wirkender Pharmaka eintretenden Reizschwellenerhöhungen nicht unmittelbar zur Definition der Wirkungsstärke geeignet erscheinen, war für die Messung der analgetischen Wirksamkeit der Antipyretica wieder das schon bei den Morphinkörpern benutzte Verfahren anzuwenden, nämlich die Einführung eines Standardpräparates. Die Wirksamkeitsmessung bestand also wieder im Aufsuchen derjenigen Dosis des zu prüfenden Analgeticums, welche einer Standarddosis eines Standardpräparates wirkungsgleich ist.

Als Standardpräparat für die Versuche mit den Antipyretica haben wir absichtlich nicht das Morphin gewählt. Wenn auch ein Vergleich der analgetischen Wirkungsstärken der Antipyretica und der Morphinkörper von großem Interesse ist, so sollte diese Frage doch wegen der starken Wirkungsverschiedenheit dieser Körperklassen vorläufig zurückgestellt werden. Aus diesem Grunde wählten wir als Standardpräparat ein gut wasserlösliches Pyramidonderivat, das Novalgin. Die Standarddosis dieses Präparates betrug immer 30 mg/kg. Bei subcutaner Zufuhr trat nach dieser Dosis eine für zuverlässige Messungen ausreichende Reizschwellenerhöhung bei allen Hunden ein, ohne daß sich narkotische oder andere störende Wirkungen bemerkbar machten.

g) Ausführung der Messung.

Die Messungen der Reizschwelle wurden während des ganzen Versuches immer mit einem Abstand von je 10 Minuten zwischen zwei Messungen ausgeführt. Zu Beginn jedes Versuches wurde in einer halbstündigen Vorperiode die normale Reizschwelle für die Testreaktion bestimmt. Der Wert war in der Regel konstant. Falls er einmal (geringe) Schwankungen zeigte,

wurde der Mittelwert aus den Einzelergebnissen für die spätere Berechnung der Reizschwellensteigerungen zugrunde gelegt.

Nach der subcutanen Injektion der Lösung des zu untersuchenden Stoffes wurde die eintretende Steigerung der Reizschwelle über den Höhepunkt der Wirkung hinaus verfolgt. In den meisten Versuchen wurden die Messungen erst beendet, wenn die Reizschwellenwerte wieder zur normalen Höhe zurückgekehrt waren. Als Wirkungsmaß einer bestimmten Dosis eines Pharmakons verwendeten wir nur den höchsten Wert, welchen die Reizschwelle für die Testreaktion erreichte (kurz „Reizschwellenmaximum" genannt).

An jedem Hund wurde zunächst einmal die Wirkung der Standarddosis von 30 mg/kg Novalgin ermittelt. Erst dann wurde in einigen weiteren Versuchen, zunächst an einem Hund, die wirkungsgleiche Dosis des jeweils zu prüfenden Stoffes aufgesucht. Diese an einem Hunde gefundene Dosis wurde dann ohne weitere Veränderung den anderen Hunden verabfolgt und ihre Wirkung mit derjenigen der Novalgin-Standarddosis verglichen. Bei jedem Tier lag zwischen den Versuchen eine Pause von mindestens einem Tag, sowohl um kumulative Wirkungen oder Gewöhnung als auch Schädigungen der Zahnpulpa zu vermeiden. Während der ganzen Versuchsperiode zeigten alle Tiere keinerlei pathologische Erscheinungen. Toxische oder narkotische Wirkungen traten bei den angegebenen Dosen niemals auf.

III. Versuchsergebnisse.

Die Genauigkeit der auf Vergleich mit einem Standardpräparat aufgebauten Meßmethode ist definiert durch die Streuung, welche die Wirkungen einer konstanten Dosis eines Präparates am gleichen Tierindividuum in verschiedenen Versuchen aufweist.

Koll und Reffert hatten an den Versuchsresultaten von zwei Hunden für zwei verschiedene Morphindosen eine in sehr erträglichen Grenzen bleibende Streuung der maximalen Reizschwellenwerte gefunden. Da die Faktoren, welche die Größe der Wirkungsstreuung einer bestimmten Substanz am einzelnen Tier bestimmen, nicht in den Einzelheiten übersehbar sind, hielten wir es für erforderlich, bei den hier vorgenommenen Untersuchungen ganz anderer Substanzgruppen wenigstens die durch eine bestimmte Dosis des Standardpräparates erzielten Wirkungen auf ihre Streuung zu untersuchen.

Die Tabelle 1 enthält für 5 Hunde die unter der Novalgin-Standarddosis gemessenen maximalen Reizschwellenerhöhungen. Aus ihnen errechnen sich nach der Fehlerquadratmethode $\left(\text{mittlerer Fehler} = \sqrt{\frac{\Sigma f^2}{n-1}}\right)$ für die Streuung der Wirkung der Novalgin-Standarddosis an den einzelnen Hunden die in Tabelle 2 wiedergegebenen Werte.

Tabelle 1. Reizschwellenerhöhung durch 30 mg/kg Novalgin (subcutan). (R. S. = Reizschwelle.)

Hund	Versuch Nr.	Datum 1938	Normale R. S. Volt	Maximale R. S. Volt	Maximale Schwellensteigerung in % der normalen R. S.
Harras (12,5 kg)	10	7. VI.	10	20,5	105
	4	18. V.	9,5	19,5	105
	7	25. V.	8	16,5	106
	2	10. V.	15	31	107
				Mittelwert:	105,7
Wölfel (13,5 kg)	1	16. V.	25	38	52
	8	9. VI.	20	31,5	57
	5	31. V.	19,5	31	59
				Mittelwert:	56
Zampa (16 kg)	1	10. V.	11	22	100
	3	16. V.	11	22	100
	9	3. VI.	12	24	100
	5	25. V.	20	41	105
	13	17. VI.	8	16,5	106
	7	27. V.	8,5	18	111
				Mittelwert:	103,6
Wolf (26,5 kg)	8	30. V.	15,5	23	65
	5	20. V.	14	23,5	68
	1	9. V.	19	33	69
	15	18. VI.	16	28	75
	3	13. V.	17,5	32	82
				Mittelwert:	71,8
Asta (21 kg)	1	6. V.	11	23	109
	7	23. V.	9	19	111
	9	31. V.	9	19	111
	3	11. V.	9	21	121
	5	17. V.	9,5	19,5	105
				Mittelwert:	111,4

Tabelle 2. Streuung der Wirkung von 30 mg/kg Novalgin subcutan.

Hund	Streuung %	Zahl der Versuche	Hund	Streuung %	Zahl der Versuche
Harras	± 0,3	4	Wolf	± 6,7	5
Wölfel	± 3,6	3	Asta	± 5,5	5
Zampa	± 4,5	6			

Demnach zeigt die Wirkung des Novalgins am Hund eine mindestens ebenso günstige Streuungsbreite wie die des Morphins, so daß für den quantitativen Wirksamkeitsvergleich der zu untersuchenden Antipyretica sehr günstige Vorbedingungen gegeben sind. Aus der Tabelle 1 geht außerdem hervor, daß an den Hunden innerhalb des relativ kurzen Zeitraumes, über den sich die Novalgininjektionen erstrecken, keine Gewöhnung gegenüber dem Novalgin eintritt.

Die an unseren 5 Hunden erhaltenen Messungsergebnisse für die Novalgin-Standarddosis und für die Dosen der geprüften Antipyretica sind in den Tabellen 3—7 zusammengefaßt.

Vergleichen wir weiterhin in einer kurzen Übersicht die Abweichungen der erzielten Reizschwellenmaxima für diejenigen Dosen der Antipyretica, die als wirkungsgleich mit der Novalgin-Standarddosis von 30 mg/kg

Tabelle 3. Hund „Harras".

(R. S. = Reizschwelle.) R. S.-Steigerung nach Novalgin: 105,7%.

Versuch Nr.	Datum 1938	Substanz	Dosis mg/kg	Normale R. S. Volt	Maximale R. S. Volt	Maximale Schwellensteigerung in % der normalen R. S.	Prozent. Abweichung vom Novalgin-Mittelwert	Bemerkungen
1	2. V.	Na-salicylic.	45	15	30	100	— 5,4	
2	10. V.	Novalgin	30	15	31	107	+ 1,2	
3	12. V.	Na-salicyl.	45	12	25	108	+ 2,2	
4	18. V.	Novalgin	30	9,5	19,5	105	— 0,7	
5	19. V.	Melubrin	40	9	18	100	— 5,4	
6	23. V.	Antipyrin	50	8	16	100	— 5,4	
7	25. V.	Novalgin	30	8	16,5	106	+ 0,3	
8	30. V.	Pyramidon	30	6	10,0	67	— 33,8	mit Natr. benzoicum
9	2. VI.	Aspirin	50	9,5	20	110	+ 4,1	als Na-Salz
10	7. VI.	Novalgin	30	10	20,5	105	— 0,7	
11	9. VI.	Pyramidon	40	9	18,5	105	— 0,7	mit Natr. benzoicum
12	13. VI.	Na-salicylic.	22,5	10	16	60	— 43,3	
13	15. VI.	Na-salicylic.	67,5	9	19,5	117	+ 10,5	
14	21. VI.	Lactophenin	40	8	17	112	+ 6,0	
15	30. VI.	Isopropyl-antipyrin	45	8	17	112	+ 6,0	

Tabelle 4. Hund „Wölfel".

R. S.-Steigerung nach Novalgin: 56%.

Versuch Nr	Datum 1938	Substanz	Dosis mg/kg	Normale R. S. Volt	Maximale R. S. Volt	Maximale Schwellensteigerung in % der normalen R. S.	Prozent. Abweichung vom Novalgin-Mittelwert	Bemerkungen
1	16. V.	Novalgin	30	25	38	52	— 7,1	
2	19. V.	Aspirin	50	25	31,5	26	— 53,6	als Li-Salz
3	25. V.	Na-salicylic.	45	25	38,5	54	— 3,6	
4	26. V.	Pyramidon	40	25	38	52	— 7,1	mit Natr. benzoicum
5	31. V.	Novalgin	30	19,5	31	59	+ 5,4	
6	2. VI.	Aspirin	50	25	39	56	0	als Na-Salz
7	8. VI.	Antipyrin	50	20	31	56	0	
8	9. VI.	Novalgin	30	20	31,5	57	+ 1,8	
9	15. VI.	Melubrin	40	11	17	55	— 1,8	
10	23. VI.	Lactophenin	40	12	18,5	54	— 3,6	
11	30. VI.	Isopropyl-antipyrin	45	13,5	21	56	0	

Tabelle 5. Hund „Zampa".
R. S.-Steigerung nach Novalgin: 103,6%.

Versuch Nr.	Datum 1938	Substanz	Dosis mg/kg	Normale R. S. Volt	Maximale R. S. Volt	Maximale Schwellensteigerung in % der normalen R. S.	Prozent. Abweichung vom Novalgin-Mittelwert	Bemerkungen
1	10. V.	Novalgin	30	11	22	100	— 3,5	
2	12. V.	Pyramidon	40	13	27,5	111,3	+ 7,6	in Propylenglykol
3	16. V.	Novalgin	30	11	22	100	— 3,5	
4	19. V.	Na-salicylic.	45	11	23	109	+ 5,2	
5	25. V.	Novalgin	30	20	41	105	+ 1,4	
6	26. V.	Pyramidon	40	8	17	112	+ 8,1	mit Natr. benzoicum
7	27. V.	Novalgin	30	8,5	18	111	+ 7,1	
8	2. VI.	Aspirin	50	9,5	19,5	105	+ 1,4	als Na-Salz
9	3. VI.	Novalgin	30	12	24	100	— 3,5	
10	9. VI.	Melubrin	40	9,5	18,5	105	+ 1,4	
11	10. VI.	Antipyrin	50	12	25	108	+ 4,3	
12	17. VI.	Novalgin	30	8	16,5	106	+ 2,3	
13	20. VI.	Lactophenin	40	9	19	110	+ 6,2	
14	23. VI.	Morph. hydrochl.	0,9	8	16	100	— 3,5	
15	27. VI.	Isopropylantipyrin	45	10,5	21,5	105	+ 1,4	Lösg. s. Text (S. 396)
16	29. VI.	Dasselbe	45	9	18,5	106	+ 3,3	„ „

Tabelle 6. Hund „Wolf".
R. S.-Steigerung nach Novalgin: 71,8%.

Versuch Nr.	Datum 1938	Substanz	Dosis mg/kg	Normale R. S. Volt	Maximale R. S. Volt	Maximale Schwellensteigerung in % der normalen R. S.	Prozent. Abweichung vom Novalgin-Mittelwert	Bemerkungen
1	9. V.	Novalgin	30	19,5	33	69	— 3,9	
2	11. V.	Antipyrin	50	17,5	30	71	— 1,1	
3	13. V.	Novalgin	30	17,5	32	82	+ 12,8	
4	17. V.	Melubrin	40	15,5	25,5	64	— 10,8	
5	20. V.	Novalgin	30	14	23,5	68	— 5,3	
6	24. V.	Na-salicylic.	45	15	25	66,6	— 8,1	
7	26. V.	Pyramidon	40	15	25	67	— 6,7	mit Natr. benzoic.
8	30. V.	Novalgin	30	15,5	25,5	65	— 9,5	
9	1. VI.	Aspirin	50	15	24,5	63	— 11,7	als Na-Salz
10	8. VI.	Novalgin	15	19	27,5	44	— 38,8	
11	10. VI.	„	45	13,5	25,5	108	+ 50	
12	27. VI.	Isopropylantipyrin	45	10	17	70	— 2,5	Lsg. s. Text (S. 396)
13	29. VI.	Dasselbe	45	10	16,5	65	— 9,5	Lsg. s. Text
14	30. VI.	Lactophenin	40	11	18	64	— 10,8	
15	28. VI.	Novalgin	30	10	17,5	75	+ 4,5	

befunden wurden, von dem durchschnittlichen Reizschwellenmaximum für 30 mg/kg Novalgin, so kommen wir zu dem Ergebnis, daß diese Abweichungen überraschend gering sind, zumal immer nur an einem Hund die Dosen bis zur

Tabelle 7. Hündin „Asta".
R. S.-Steigerung nach Novalgin: 111,4%.

Versuch Nr.	Datum 1938	Substanz	Dosis mg/kg	Normale R. S. Volt	Maximale R. S. Volt	Maximale Schwellensteigerung in % der normalen R. S.	Prozent. Abweichung vom Novalgin-Mittelwert	Bemerkungen
1	6. V.	Novalgin	30	11	23	108	— 2,1	
2	13. V.	Melubrin	40	9	19	111	— 0,4	
3	11. V.	Novalgin	30	10	21	121	— 8,4	
4	19. V.	Antipyrin	50	8	17	112	+ 0,5	
5	17. V.	Novalgin	30	9,5	19,5	105	— 5,6	
6	20. V.	Na-salicylic.	45	9	19	110	— 1,2	
7	25. V.	Novalgin	30	8	16,7	109	— 2,1	
8	27. V.	Pyramidon	40	8	17	112	+ 0,5	mit Natr. benzoic.
9	31. V.	Novalgin	30	9	19	111	— 0,4	
10	2. VI.	Aspirin	50	10	20	100	— 10,0	als Na-Salz
11	9. VI.	Pyramidon	40	8,5	17,5	106	— 4,7	in Propylenglykol
12	21. VI.	Lactophenin	40	8	17	112	+ 0,5	

Tabelle 8. Prozentuale Abweichung der durch die aufgeführten Analgetica erzielten Reizschwellenmaxima von dem für 30 mg/kg Novalgin gefundenen mittleren Reizschwellenmaximum.

Präparat	Dosis mg/kg	Harras	Wölfel	Zampa	Wolf	Asta	Durchschnittliche Abweichung
Novalgin-Standard	30	105,7	56	103,6	71,8	111,4	—
Pyramidon	40	— 0,7	— 7,1	+ 8,1 + 7,6	— 6,7	+ 0,5	+ 0,3
Aspirin	50	+ 4,1	± 0	+ 1,4	— 11,7	— 10,0	— 3,7
Melubrin	40	— 5,4	— 1,8	+ 1,4	— 10,8	— 0,4	— 3,4
Antipyrin	50	— 5,4	± 0	+ 4,3	— 1,1	+ 0,5	— 0,3
Na-salicylic.....	45	— 5,4 + 2,3	— 3,6	+ 5,2	— 8,1	— 1,2	— 1,8
Lactophenin	40	+ 6,0	— 3,6	+ 6,2	— 10,8	+ 0,5	— 0,1
Isopropylantipyrin	45	+ 6,0	± 0	+ 1,4 + 3,3	— 9,5 — 2,5	—	— 0,2

Wirkungsgleichheit mit dem Standard variiert wurden und die so gefundene wirkungsgleiche Dosis ohne weitere Veränderung an den anderen 4 Hunden verabfolgt wurde.

Berechnen wir nach diesen Versuchsergebnissen aus den reziproken Werten der wirkungsgleichen Dosen die relativen Wirkungsstärken der geprüften Pharmaka, indem wir die Wirksamkeit des Novalgins = 1 setzen, so ergeben sich folgende Werte:

Novalgin	1,00
Pyramidon	0,75
Melubrin	0,75
Lactophenin	0,75
Na-salicylicum	0,66
Isopropylantipyrin	0,66
Aspirin	0,60
Antipyrin	0,60

Die Unterschiede in den Wirkungsstärken bewegen sich also in sehr viel bescheideneren Grenzen als beim Morphin und seinen Derivaten.

Nur um uns über die Größenordnung der Wirksamkeitsunterschiede zwischen den hier untersuchten Körpern und Morphin zu orientieren, ermittelten wir an einem Hund in einigen Versuchen die mit unserer Novalgin-Standarddosis wirkungsgleiche Morphindosis (vgl. Tabelle 5). Wir fanden, daß 0,9 mg/kg Morphin. hydrochloric. dieselbe Wirkung hatten wie 30 mg/kg Novalgin; demnach hätte das Morphinchlorhydrat die 33fache Wirksamkeit des Novalgins. Es muß jedoch in weiteren Versuchen näher untersucht werden, ob und wie stark sich diese Relation in anderen Dosierungsbereichen ändert. Nach den klinischen Erfahrungen wäre vom Morphin ja eine analgetische Wirksamkeit zu erwarten, die von den Antipyretica auch bei entsprechend höherer Dosierung überhaupt nicht erreicht werden kann.

Es bedarf keiner näheren Begründung, daß der Resorptionsverlauf auf den Grad der erzielten Analgesie einen erheblichen Einfluß haben muß. Daher war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die Maßnahmen, welche zur Herstellung injizierbarer Lösungen unserer schwerlöslichen Substanzen angewendet wurden (Salzbildung oder Anwendung von „Lösungsvermittlern"), zugleich auch Unterschiede der Resorption und damit der Wirksamkeit bedingten.

An einigen Beispielen sind wir dieser Frage nachgegangen und haben den Wirkungsgrad einer bestimmten Dosis derselben Substanz in verschieden zusammengesetzten Lösungsmitteln geprüft. Für das Pyramidon (Tabelle 5, Versuch Nr. 2 und 6) und für das Isopropylantipyrin (Tabelle 5, Versuch Nr. 15 und 16, Tabelle 6, Versuch Nr. 12 und 13) ergab sich dabei, daß die organischen Lösungsvermittler offenbar gar keinen Einfluß auf die Wirkung ausüben; beide Stoffe zeigen in je zwei ganz verschiedenen Lösungsmitteln gelöst die gleiche Wirksamkeit.

Dagegen fanden wir beim Aspirin (Tabelle 4, Versuch Nr. 2 und 6), daß die gleiche Dosis als Na-Salz die Reizschwelle um 56% steigerte, während sie als Li-Salz nur eine Reizschwellenzunahme von 26% erzeugte.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Im Hinblick auf die Frage der allgemeinen Brauchbarkeit der in den vorstehend mitgeteilten Versuchen zum ersten Male auf die Antipyretica angewendeten neuen Methode zur Messung analgetischer Wirkungen im Tierexperiment erscheint es uns bemerkenswert, daß in dieser Versuchsanordnung, bei der ein gerade sicher überschwelliger und fein graduierbarer Schmerzreiz zur Anwendung gelangt, alle geprüften Stoffe, deren schmerzlindernde Wirksamkeit am Menschen durch klinische Beobachtung gesichert ist, am Tier eine sichere zentralanalgetische Wirkung gezeigt haben. Dieses Ergebnis bedeutet schon in qualitativer Hinsicht eine Abweichung von den

Resultaten anderer tierexperimenteller Methoden, bei welchen manche klinisch gut wirksamen Präparate eine zentralanalgetische Wirkung nicht oder nur unsicher hatten erkennen lassen, und zwar bei einer Dosierung, die im allgemeinen ganz außerordentlich viel höher lag als in unseren Versuchen.

So erwies sich Aspirin als nicht [6, 7, 8] oder kaum [9, 10] wirksam, ebenso die Salicylsäure [6, 8, 10], während die für das Melubrin [6, 10], Novalgin [6], Lactophenin [6, 10], Antipyrin [6, 9], Pyramidon [6, 7, 8, 9, 10] am Tier nachgewiesenen analgetischen Wirkungen gewöhnlich mit so enormen Dosen erreicht wurden — die teilweise schon in das Gebiet der letalen Dosen hineinragen —, daß Zweifel an der Spezifität der Wirkung wohl nicht unbegründet sind. Dementsprechend bieten sich auch kaum Möglichkeiten, die quantitativen Ergebnisse unserer Versuche mit denen anderer Tierversuche in Vergleich zu stellen.

Die von uns angewendeten Dosen liegen sehr viel niedriger und es zeigen sich nach ihnen noch nicht die geringsten Anzeichen einer Allgemeinwirkung, ganz sicher also keine toxischen Wirkungen. Sie sind zwar wesentlich höher — etwa bis zu einer Zehnerpotenz — als die für gewöhnlich am Menschen zur Schmerzstillung angewendeten, aber hierin scheint sich eine ganz allgemein vorhandene geringere Empfindlichkeit des Hundes gegenüber analgetisch wirkenden Pharmaka zu offenbaren, denn die gleiche Tatsache konstatierten Koll und Reffert [1] auch beim Morphin und seinen Verwandten.

Von besonderem Interesse war für uns der Vergleich unserer Ergebnisse mit denjenigen, welche für die Antipyretica am Menschen mit elektrischer Reizung der Zahnpulpa erhalten wurden [11]. Die weniger exakten physikalischen Reizbedingungen dieser Versuche und die Art ihrer Auswertung sowie der perorale Zufuhrweg der geprüften Pharmaka haben hier allerdings eine gewisse Uneinheitlichkeit der Resultate zur Folge, jedoch ist eine zentralanalgetische Wirkung beim Aspirin (0,5—1,0), Pyramidon (0,3—0,5), Antipyrin (0,3—0,1) und Novalgin (0,5) sicher vorhanden; Natrium salicylicum und Isopropylantipyrin wurden in diesen Versuchen nicht geprüft. Die Versuche von Freund und Mitarbeitern haben also am Menschen qualitativ das gleiche Ergebnis erbracht wie unsere Prüfungen am Hund. Ein näherer Vergleich mit ihren noch relativ ungenauen quantitativen Angaben für den Menschen erscheint uns wegen der doch recht abweichenden Versuchsbedingungen nicht möglich.

---

[6] Hesse, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 250 (1930). — [7] Pohle, K., u. Spieckermann: Ebenda **162**, 185 (1931). — [8] Sivadjian, J.: Arch. internat. Pharmacodynam. **52**, 146 (1935). — [9] Hildebrandt, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 410 (1934). — [10] Hesse, E., G. Roesler, F. Bühler: Ebenda **158**, 247 (1930). — [11] Vgl. Freund, H.: Ebenda **180**, 209 (1936) und die dieser Arbeit zugrunde liegenden Dissertationen.

Zusammenfassung.

1. Es wird die von Koll und Reffert beschriebene Methode zur Messung zentralanalgetischer Wirkungen am Hund für die Prüfung einer Anzahl Antipyretica, deren analgetischer Effekt klinisch als sicher bekannt ist, angewendet. Geprüft wurden bei subcutaner Anwendung: Aspirin, Natrium salicylicum, Pyramidon, Antipyrin, Isopropylantipyrin, Melubrin, Novalgin und Lactophenin.

2. Es werden einige zweckmäßige technische Verbesserungen der Methode mitgeteilt.

3. Es wurden einige weitere Beobachtungen zu der Frage erhoben, ob die gewählte Testreaktion als Schmerzäußerung zu werten ist.

4. Qualitativ läßt sich für alle geprüften Stoffe eine analgetische Wirkung nachweisen.

5. Die analgetische Wirksamkeit einer bestimmten Dosis eines Antipyreticums weist am einzelnen Tier eine so mäßige Streuung auf, daß ein quantitativer Vergleich der Wirksamkeit für die verschiedenen Substanzen mit Hilfe einer „Standarddosis" eines „Standardpräparates" durchgeführt werden konnte. Als Standardpräparat diente Novalgin.

6. Die Versuchsergebnisse werden kurz verglichen mit den durch andere tierexperimentelle Methoden und durch Reizversuche am Menschen erhaltenen Resultaten. Dabei erweist sich die hier angewendete Versuchsanordnung für qualitative und quantitative Zwecke als eine erhebliche Verbesserung gegenüber den bisher beschriebenen Prüfungsmethoden im Tierversuch.

Nachtrag.

Die vorstehende Arbeit war im Dezember 1938 vollständig abgeschlossen. Die Einsendung zur Veröffentlichung war für den Herbst 1939 vorgesehen, sie wurde jedoch durch die Zeitereignisse bis jetzt verzögert.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit von H.-J. Kiessig und G. Orzechowski [dieses Archiv **197**, 391 (1941)] wird nach unveröffentlichten Versuchen von Reichelt kurz mitgeteilt, daß am Hund bei elektrischer Reizung der Zahnpulpa unter Pyramidon und Aspirin eine Erniedrigung der Reizschwelle eintritt. Zu den Unterschieden der Ergebnisse von Reichelt und uns soll im folgenden kurz Stellung genommen werden.

Soweit aus Abb. 12 der oben zitierten Arbeit ersichtlich ist, liegen die verabreichten Pyramidondosen (30 mg/kg) in derselben Größenordnung, welche wir angewendet haben, während die Aspiringaben (4,6 mg/kg) etwa ein Zehntel der unsrigen (50 mg/kg) betragen.

Im Kieler Institut wurde im allgemeinen die Reaktion der Hunde auf Einzelreize (mit je 1 Sekunde Abstand 5 Reize) beobachtet (nach Behrens und Reichelt), während wir 1 Sekunde lang mit einer Frequenz von 15/sec reizten.

Kiessig und Orzechowski erörtern die Einflüsse der Reizfrequenz und teilen auch mit, daß die Veränderungen der Reizschwellen unter dem Einfluß von analgetisch wirkenden Stoffen bei den verschiedenen Reizarten sich grundsätzlich gleichartig verhalten. Wir halten es auf Grund einiger Beobachtungen trotzdem für möglich, daß wenigstens bei den Antipyretica — langsame Einzelreize und frequente Reizserien zu verschiedenen Ergebnissen führen.

Die Reaktionsform der Hunde auf die verschiedene Reizungsart ist durchaus verschieden. Auf eine frequente Reizserie reagieren die Tiere mit einem längeren individuellen, zusammengesetzten Bewegungsablauf, auf Einzelreize dagegen mit einer kurzen zuckenden Bewegung einzelner Muskelgruppen, welche viel schwerer daraufhin zu beurteilen ist, wie weit sie Ausdruck einer Schmerzwahrnehmung oder nur ein unwillkürlicher Reflexvorgang ist.

Wir haben in der vorstehenden Arbeit darauf hingewiesen (S. 395), daß in dem ganzen Bewegungsbild unserer Testreaktion für „Schmerz" zweifellos einige Komponenten von Reflexcharakter enthalten sind und daß für diese unter der Wirkung der Antipyretica die Reizschwelle „zum mindesten sehr viel weniger ansteigt". Ferner wurde oben (S. 395) die sicherlich reflektorische Reaktion eines Hundes auf schwachen Einzelreiz erwähnt, von der wir beobachteten, daß ihre Reizschwelle im Schlaf und unter der Wirkung der Antipyretica nicht ansteigt. [Da wir eine Umschaltung der Empfindlichkeit unseres Meßinstrumentes für eine ganz genaue Messung der relativ niedrigen Reizschwelle (1 Volt) zwischen den gewöhnlichen Messungen bei frequenten Reizserien vermeiden wollten, haben wir uns mit der Feststellung begnügt, daß die Reizschwelle für den Einzelreiz nicht ansteigt.]

Ferner beobachteten wir bei einigen Versuchen mit hoher Dosierung des Pyramidons, die in der Arbeit nicht berücksichtigt wurden, stärkere toxische Wirkungen des Pyramidons in Form von Steigerung der Reflexerregbarkeit und Krämpfen mit tetanusähnlichen Stadien.

Auf Grund der angeführten Beobachtungen halten wir es für wahrscheinlich, daß die gegensätzlichen Befunde von Reichelt und uns über die Wirkung des Pyramidons (und wohl auch des Aspirins) auf die Reaktion der Hunde gegenüber elektrischer Reizung der Zahnpulpa durch die Verschiedenheit der angewendeten Reizarten eine Erklärung finden dürften.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.

Über die Aufnahme von Stromdosiskurven mit Wechselstrom.

Von

Kurt Eckel.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. August 1941.)

Scheminzky zeigte, daß in Wasser mit Wechselstrom durchströmte Fische und Frösche [1] sowie andere Wassertiere [2] bei einem bestimmten Stromstärkewert in einen allgemeinen tetanischen Krampf verfallen. Nach Scheminzky und Mitarbeitern [3] läßt sich die zur Herbeiführung des Krampfes eben erforderliche Stromstärke durch Vorbehandlung der Tiere mit zentrallähmenden Mitteln — durch Summation von Pharmakon und Stromwirkung — erhöhen. Wird die erforderliche Wechselstromdosis vor und nach Einspritzung des Pharmakons in gleichbleibenden Zeitabständen fortlaufend bestimmt, so lassen sich — wie mit ab- bzw. aufsteigendem Gleichstrom — Stromdosiskurven gewinnen, die für das eingespritzte Mittel kennzeichnend sind [4]. Die Aufnahme von Stromdosiskurven mit Wechselstrom kann daher eine wertvolle Ergänzung der Stromdosiskurven mit Gleichstrom darstellen. Über Anregung von Prof. Dr. F. Scheminzky wurden weitere Untersuchungen über solche Wechselstrom-Stromdosiskurven durchgeführt, vor allem im Hinblick auf die Streuung der Kontrollwerte, auf die Abhängigkeit des Kurvenverlaufes von der eingespritzten Dosis sowie auf die Rolle der Konzentration des Mittels. Da gerade bei Fröschen das Eintreten des allgemeinen tetanischen Krampfes an der Streckung der Hinterbeine leicht zu erkennen ist, wurden die Untersuchungen (durchgeführt in den Monaten März bis Dezember 1939) an Rana esculenta vorgenommen.

Methodik.

Bei dem Stromdosis-Verfahren nach Scheminzky handelt es sich darum, den Schwellen-Stromstärkewert für eine bestimmte Stromwirkung — im vorliegenden Fall für den Wechselstromkrampf — vor und nach der Einspritzung eines Pharmakons in den Rückenlymphsack des Frosches in regelmäßigen Zeitabständen zu bestimmen; die Einzelwerte je Meßzeitpunkt sind dann zur Stromdosiskurve zu verbinden.

---

[1] Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **202**, 200 (1924); **233**, 371 (1933). — [2] Scheminzky, Fe. u. Fr.: Z. vergl. Physiol. **25**, 170 (1937). — [3] Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **233**, 371 (1933); Kraus, H., u. W. Reiffenstuhl: Ebenda, S. 380; Adler, P.: Z. Biol. **99**, 19 (1938). — [4] Scheminzky, F.: Forschungen und Fortschritte **15**, 223 (1939); daselbst Übersicht und Schrifttumshinweise.

Die elektrische Durchströmung erfolgte in einer Wanne von 340 × 160 mm Grundfläche bei einem Wasserstand von 80 mm (Wiener Leitungswasser), an deren Schmalseiten zur Stromzuführung den Querschnitt ausfüllende Kohleplatten eingehängt waren. Der Wechselstrom wurde dem 110-V-Stadtnetz über einen als Spannungsteiler geschalteten Widerstand entnommen; im Nebenschluß zum Widerstand lag die Versuchswanne mit einem Wechselstrom-Milliamperemeter in Reihenschaltung. Zur feineren Regelung der Stromstärke wurde später noch ein Reihenwiderstand von einigen 100 Ohm in den Nebenkreis gebracht.

Zur Bestimmung der Schwellen-Stromdosis für den Krampf wurde der Frosch in die Wannenmitte gesetzt und seine Längsachse mit einer Glasgabel in die Richtung der Stromlinien (= senkrechte Elektrodenverbindungslinien) eingestellt. Anschließend erfolgte allmähliche Verstärkung des Stromes von Null aus mit dem Gleitkontakt am Spannungsteiler bzw. am Vorschaltwiderstand bis zum plötzlichen Eintreten des Streckkrampfes der Hinterbeine, worauf am Milliamperemeter die Schwellenstromdosis abzulesen ist. Um ein möglichst scharfes Eintreten des Streckkrampfes hervorzurufen, ist es zweckmäßig, das Tier während der Stromverstärkung mit der es umfassenden Glasgabel ganz leicht um seine Längsachse nach links und rechts hin und her zu drehen; dieser Bewegungsreiz wirkt sich so aus, daß die bis knapp vor dem Erreichen der Schwellen-Stromstärke bestehende Ruhehaltung des Tieres ganz plötzlich — bei geringster Erhöhung der Stromstärke — in den Streckkrampf übergeht. Bei einiger Übung gelingt es, die Bestimmung der Schwellen-Stromdosis in etwa einer halben Minute durchzuführen.

Der allgemeine Versuchsverlauf bestand zunächst in der Bestimmung der Krampfschwelle des noch unbeeinflußten Tieres, die nach einer Pause von 12 Minuten wiederholt wurde. Anschließend an diese zweite Bestimmung wurde die Einspritzung des Mittels — gelöst in Aqua dest. — in den Rückenlymphsack vorgenommen. In weiteren Abständen von gleichfalls 12 Minuten wurden dann immer wieder die Schwellen-Stromstärken für den Wechselstromkrampf festgestellt, so lange, bis eine durch das Mittel etwa bewirkte Änderung der Stromdosis wieder abgeklungen war.

Jeder Versuch wurde gleichzeitig mit 5 Tieren durchgeführt, die abwechselnd in 12-Minuten-Abständen durchströmt wurden. Da — abhängig von Körpergröße, Erregbarkeit und sonstigen physiologischen Eigenheiten des einzelnen Tieres — die Schwellen-Stromstärken von Frosch zu Frosch verschieden sind, müssen die gemessenen Werte von allen Tieren eines Versuchs auf eine vergleichbare Basis gebracht werden. Zu diesem Zwecke wurde der Mittelwert aus der ersten und zweiten Krampfschwellen-Bestimmung (beide noch vor Einspritzung des zu prüfenden Stoffes) gleich 100 gesetzt und alle folgenden an diesem Tier bestimmten Krampfschwellen in Prozente dieses Ausgangswertes umgerechnet. Schließlich wurden alle Prozentwerte je Meßzeitpunkt der 5 zu einem Versuch gehörenden Tiere zu einem Mittelwert zusammengezogen. Diese mittleren Prozentwerte liefern dann, in ein Koordinatensystem — mit der Zeit als Abszisse, dem Prozentwert der Stromdosis als Ordinate — eingetragen, die gesuchte Stromdosiskurve. Bei Kontrolltieren pendeln die wiederholt bestimmten Krampfschwellen nur in geringem Ausmaß um die Linie für 100% (vgl. später).

Steigt nach der Einspritzung eines Stoffes die Stromdosiskurve über die Linie für 100% hinaus (Erhöhung der Schwellen-Stromdosis), so muß das eingespritzte Mittel einen zentral lähmenden Einfluß entfaltet haben; umgekehrt zeigt ein Sinken der Stromdosiskurve unter die Linie von 100% die Einwirkung eines Mittels mit zentral erregbarkeitssteigernder Wirkung an. Je nach der Wirkungsdauer des geprüften Stoffes kehrt die Stromdosiskurve nach kürzerer oder längerer Zeit wieder zur Linie für 100% zurück, um dann weiterhin um diese, so wie vor der Einspritzung, nur in geringem Ausmaß zu pendeln.

Ergebnisse.

1. Die Streuung der Krampfschwellen bei Kontrolltieren.

Nach einiger Übung gelingt es, wie auch Abb. 1 zeigt, die Streuung der an unbeeinflußten Tieren wiederholt gemessenen Krampfschwellen auf dem geringen Wert von etwa $\pm$ 3% zu halten. Aus Abb. 1 geht ferner hervor, daß eine wiederholte, aber kurzdauernde Durchströmung der Frösche mit Wechselstrom selbst bei einer Gesamtversuchsdauer von 2 Stunden die Stromdosis nicht verschiebt. Dies ist deshalb grundsätzlich wichtig, weil auf Grund dieses Befundes auch Mittel langer

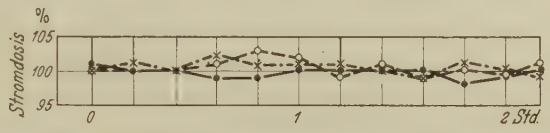


Abb. 1. Die Wechselstrom-Krampfschwellen an unbeeinflußten Fröschen (Kontrollen), in Zeitabständen von je 12 Minuten bestimmt; drei verschiedene Versuche mit je 5 Tieren.

Wirkungsdauer mit Wechselstrom untersucht werden können ohne daß die Gefahr einer Krampfschwellen-Erniedrigung etwa als Folge einer Stromschädigung besteht.

2. Vergleich von Stromdosiskurven zentral lähmender Mittel mit verschieden großer Wirkungsdauer bzw. Wirkungstiefe.

Da die Länge der Stromdosiskurve und die Höhe des Maximums nach den bisherigen Erfahrungen in erster Linie von der injizierten Menge

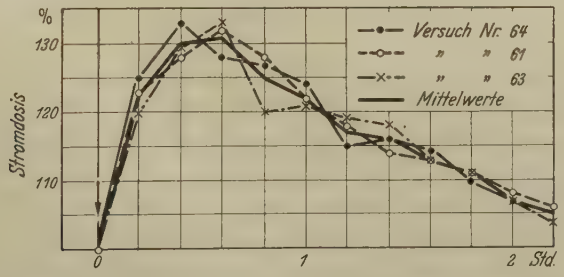


Abb. 2. Stromdosiskurven für Pernocton in 0,2%iger Lösung. Injizierte Menge 0,025 g je kg Frosch (= halbe Dosis efficax minima). Der Pfeil entspricht dem Augenblick der Injektion. Die dünn ausgezogenen Kurven entsprechen je einem Versuch mit 5 Tieren. Die voll und stark ausgezogene Kurve verbindet die Mittelwerte aus allen drei Versuchen.

des Pharmakons abhängt, müssen bei Vergleichsversuchen stets gleichwertige Dosen verwendet werden. So wie früher beim Stromdosis-Verfahren mit Gleichstrom wurde daher auch hier den einzelnen Tieren jeweils die halbe Dosis efficax minima eingespritzt. Ich benutzte die

für Rana esculenta bereits von Adler und Hradecky[5] festgestellten Dosiswerte, wobei unter Dos. eff. min. — ausgedrückt in Gramm für 1 kg Frosch — jene Mengen zu verstehen sind, welche bei mindestens 4 von 5 Versuchstieren deutliche Beeinträchtigung des Verhaltens (Benommenheit bzw. Bewegungsunlust bei noch erhaltener Lagekorrektur nach Umdrehen in Rückenlage) hervorbrachten.

In Abb. 2 sind in verschiedener Strichführung 3 Stromdosiskurven für Pernocton in halber Dos. eff. min. (0,2%ige Lösung 0,025 g je kg Tier) dargestellt. Jede einzelne der mit 5 Tieren aufgenommenen Kurven zeigt einen etwas zackigen Verlauf, der auf die Streuung der einzelnen Meßwerte zurückzuführen ist. Werden die 3 Kurven der Abb. 2 jedoch zu einer — in Abb. 2 stark ausgezogenen — Mittelkurve zusammengefaßt, so ergibt sich ein wesentlich glatterer Verlauf. Gleiches konnte auch bei

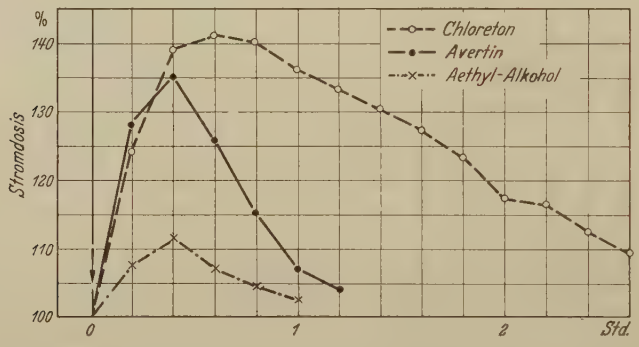


Abb. 3. Stromdosiskurven für drei zentral lähmende Mittel mit verschieden langer Wirkungsdauer in halber Dosis efficax minima: Chloreton (0,5%ige Lösung, 0,035 g je kg Frosch), Avertin (0,5%ige Lösung, 0,025 g je kg) und Äthylalkohol (5%ige Lösung, 1,75 g je kg). Der Pfeil entspricht dem Augenblick der Injektion.

der Zusammenziehung anderer Stromdosiskurven beobachtet werden, so daß es zweckmäßig ist, zur Festlegung einer endgültigen Stromdosiskurve nicht einen Einzelversuch mit 5 Tieren, sondern mindestens 3 solcher Versuche heranzuziehen.

In Abb. 3 sind Stromdosiskurven für 3 weitere zentral lähmende Mittel — jede wieder aus 3 Versuchen zusammengesetzt — in halber Dos. eff. min. wiedergegeben. Für diese Mittel bestehen sowohl hinsichtlich der Wirkungsdauer — gekennzeichnet durch die Zeit zwischen Anstiegsbeginn der Stromdosiskurve und ihrer Rückkehr zur Linie für 100% — als auch hinsichtlich der Wirkungstiefe — gekennzeichnet durch die Höhe des Kurvenmaximums über der Linie für 100% — beträchtliche Unterschiede; auf diese soll aber hier, da das Methodische im Vordergrund der Fragestellung stand, vorläufig nicht weiter eingegangen werden.

[5] Adler, P., u. Cl. Hradecky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 541 (1936).

Stromdosiskurven für die Mittel in Abb. 3 sind von Adler und Hradecky[6] bei gleicher Dosierung auch mit absteigendem Gleichstrom aufgenommen und an dieser Stelle veröffentlicht worden. Vergleicht man Wirkungsdauer und Wirkungstiefe im Gleich- und Wechselstromversuch, so ergibt sich bei Avertin und Chloreton nur ein geringgradiger Unterschied (etwas kleinere Wirkungstiefe und etwas kürzere Wirkungsdauer im Wechselstrom); auffallend ist dagegen, daß Äthylalkohol im Wechselstrom eine viel kürzere Wirkungsdauer entfaltet und auch die Ausgangs-Stromdosis in wesentlich geringerem Ausmaß verschiebt. Dies könnte damit zusammenhängen, daß Äthylalkohol zu den „Großhirnmitteln" gerechnet wird[7]; für andere „Großhirnmittel" hat Adler[8] bereits gezeigt, daß sich die mit Wechselstrom aufgenommenen Stromdosiskurven von den mit Gleichstrom aufgenommenen durch ein geringeres Ausmaß an Höhe und Länge unterscheiden. Es zeigt sich in der Abweichung von Gleichstrom- und Wechselstrom-Stromdosiskurve vielleicht in neuer Weise eine Besonderheit der als „Großhirnmittel" bezeichneten Stoffe; hier sind allerdings noch weitere Untersuchungen nötig.

3. Die Abhängigkeit der Stromdosiskurve zentral lähmender Mittel von ihrer Dosierung.

Es ist selbstverständlich zu erwarten, daß sowohl die Länge als auch die Höhe des Maximums der Stromdosiskurve von der Dosierung des

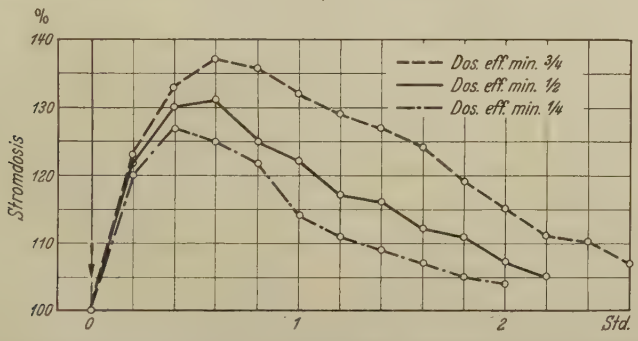


Abb. 4. Abhängigkeit der Stromdosiskurve bei Pernocton von der eingespritzten Dosis (0,2%ige Lösung, injizierte Dosis 0,0375 g, bzw. 0,025 g, bzw. 0,0125 g je kg Frosch). Der Pfeil entspricht dem Zeitpunkt der Injektion.

Pharmakons abhängt; bei größeren Mengen des injizierten Stoffes muß sich jeweils die Wirkungsdauer sowie die Wirkungstiefe vergrößern. In den Versuchen von Scheminzky und Mitarbeitern (a. a. O.) wurde dies bereits für die mit Gleichstrom aufgenommenen Stromdosiskurven gezeigt. Für Wechselstrom trifft die genannte Beziehung nach meinen Versuchen mit Pernocton bzw. Eunarcon gleichfalls zu.

In Abb. 4 sind 3 Stromdosiskurven aus Versuchen mit Pernocton wiedergegeben (jede wieder aus 3 gleichen Versuchen mit insgesamt

[6] Adler, P., u. Cl. Hradecky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 541 (1936); vgl. dort Abb. 1 auf S. 546. — [7] Über die Einteilung von Narcoticis und Schlafmittel in „Hirnstammmittel" und „Großhirnmittel" vgl. H. Mollitor u. E. P. Pick in Jahreskurse f. ärztl. Fortbildung **20**, 66 (1929). — [8] Adler, P.: Z. Biol. **99**, 17 (1938).

15 Tieren zusammengesetzt). Mit Vergrößerung der Dosis steigt sowohl die Wirkungsdauer (Länge der Kurve bis zur Rückkehr zum Ausgangswert) als auch die Wirkungstiefe (Höhe des Kurvenmaximums). Genau so wie bei den Versuchen mit Gleichstrom wird der Wirkungshöhepunkt jedoch um so später nach der Injektion erreicht, je größer die injizierte Dosis war.

Auffallend ist bei derartigen Kurven, daß die Verschiebung von Wirkungstiefe und Wirkungsdauer nicht proportional der injizierten Dosis erfolgt. Bei Verdopplung der eingespritzten Menge (Dos. eff. min. $^1{}_2$ statt Dos. eff. min. $^1{}_4$ in Abb. 4) wird weder die doppelte Wirkungsdauer noch die doppelte Wirkungstiefe auch nur annähernd erreicht. Die Vergrößerung dieser beiden Kennzeichen der Narkoticum-Wirkung erfolgt vielmehr nur in bescheidenem Ausmaß. Diese Erscheinung zeigte sich nicht nur in den vorliegenden Versuchen mit Wechselstrom, sondern bereits in den früheren Versuchen mit dem Stromdosisverfahren bei Verwendung von Gleichstrom. Auch hier sind weitere Untersuchungen erforderlich.

4. Abhängigkeit der Stromdosiskurve von der Konzentration eines zentral lähmenden Mittels.

Im Rahmen der vorliegenden methodischen Untersuchung wurde auch der Frage nachgegangen, ob bei gleicher injizierter Gesamtmenge die Konzentration des wirksamen Stoffes für den Verlauf der Stromdosiskurve eine Rolle spielt oder nicht. Für diese Versuche wurde Äthylalkohol herangezogen, dessen Stromdosiskurve aus den hier unter Punkt 2 besprochenen Versuchen für die Konzentration von 5% bereits bekannt war. Zum Vergleich wurde die gleiche Menge (1,75 g je kg Frosch), jedoch in 20%iger Lösung injiziert.

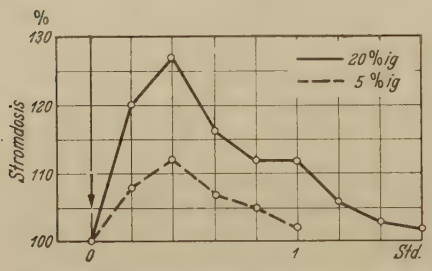


Abb. 5. Abhängigkeit der Stromdosiskurve für Äthylalkohol von der Konzentration bei gleicher eingespritzter Menge (1,75 g je kg Frosch). Der Pfeil entspricht dem Augenblick der Injektion.

Abb. 5 zeigt die beiden Stromdosiskurven, die sich voneinander ganz wesentlich unterscheiden. Trotz gleich großer injizierter Gesamtmenge ist bei höherer Konzentration nicht nur der Anstieg steiler und das Maximum höher, sondern auch die gesamte Wirkungsdauer wesentlich verlängert. Der schnellere Anstieg und das größere Maximum bei höherer Konzentration erklären sich wohl aus der größeren Resorptionsgeschwindigkeit. Sonst zeigen beide Kurven ähnliche Gestalt.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß bei Aufnahme von Stromdosiskurven auch die Konzentration des zu prüfenden Stoffes in seinem Lösungsmittel nicht unberücksichtigt bleiben darf. Daß auch das Lösungsmittel selbst durch Einfluß auf die Resorptionsgeschwindigkeit Verlauf und Gestalt der Stromdosiskurve verschiebt, hat bereits Köllensperger[9] für Avertin gezeigt.

5. Die Stromdosiskurve bei zentralerregenden Mitteln.

Da der Wechselstromkrampf durch eine Erregungswirkung auf das Zentralnervensystem zustande kommt, muß jede Erregbarkeitssteigerung in diesem das Eintreten des Krampfes erleichtern; da also weniger Wechselstrom zur Krampfauslösung erforderlich ist, fällt hier die Stromdosiskurve. Als Beispiel ist in Abb. 6 ein Versuch mit Coffein wiedergegeben, für welches Mittel zwar von Scheminzky[10] die Addition zur Wechselstromwirkung bereits nachgewiesen war, ohne daß allerdings die zeitliche Verfolgung der Coffeinwirkung in Form der Stromdosiskurve bisher erfolgte. Die hier injizierte Dosis war für sich allein unwirksam und beeinflußte das Verhalten der Versuchsfrösche in keiner Weise; es sind also auch latent bleibende Erregungswirkungen mit dem Stromdosisverfahren nachzuweisen und messend zu verfolgen.

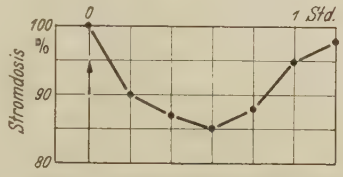


Abb. 6. Stromdosiskurve für Coffeinum purum (0,5%ige Lösung, 0,05 g je kg Frosch). Der Pfeil entspricht dem Augenblick der Injektion.

Zusammenfassung.

Mit Wechselstrom von 50 Hz aus den üblichen Lichtnetzen können unter Beobachtung des Wechselstromkrampfes bei Fröschen „Stromdosiskurven" in entsprechender Art wie mit Gleichstrom aufgenommen werden, welche reproduzierbar und für das in den Rückenlymphsack injizierte Mittel kennzeichnend sind. Nach Einübung werden an Kontrolltieren selbst im stundenlangen Versuch immer wieder praktisch die gleichen Schwellen-Stromstärkewerte für den Krampf gefunden, die nur eine Streuung von $\pm 3\%$ aufweisen. Injektion eines Pharmakons mit zentral lähmender Wirkung (untersucht: Pernocton Chloreton, Avertin, Äthylalkohol und Eunarcon, meist in halber Dosis effica minima) erhöht die Krampfschwellen und führt zum Ansteigen der Stromdosiskurve während der Resorption bis zu einem Maximum, mit der Zerstörung und Ausscheidung zu deren Absinken bis wieder zum Ausgangswert. Wirkungsdauer (gekennzeichnet durch die Zeit von der Injektion bis zur Rückkehr der Kurve zum Ausgangswert) sowie Wirkungstiefe (gekennzeichnet durch die Lage des Kurvenmaximums) sind sowohl von der eingespritzten Menge als auch von der Konzentration abhängig. Ein zentral erregender Stoff (untersucht: Coffein) erniedrigt die Krampfschwelle und führt ein Absinken der Stromdosiskurve zu einem Minimum mit Wiederanstieg zum Ausgangswert herbei. Die Aufnahme von Stromdosiskurven mit Wechselstrom kann daher bei Prüfung von Pharmacis mit zentraler Wirkung — unter Berücksichtigung von Menge und Konzentration — eine wertvolle Ergänzung zur Aufnahme von Stromdosiskurven mit Gleichstrom darstellen.

[9] Köllensperger, F. K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 232 (1940). — [10] Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **233**, 371 (1933).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Zürich (Schweiz).
(Dir.: Prof. W. Löffler.)

Das Verhalten des Blutzuckers bei der experimentellen CO-Vergiftung und bei der Stickstoffatmung.

Ein Beitrag zur Frage der spezifisch toxischen Wirkung des Kohlenoxyds.

Von

S. Moeschlin und **W. Wildermuth.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1941.)

Die Ansichten über die eigentliche Ursache der bei akuten Kohlenoxydvergiftungen zu beobachtenden Störungen gehen auch heute noch immer weit auseinander und die Frage, ob hierbei lediglich die Anoxämie oder auch spezifisch toxische Eigenschaften des Kohlenoxyds eine Rolle spielen, hat von jeher zahlreiche Untersucher beschäftigt. Solange diese Frage nicht entschieden ist, wird auch das Vorkommen chronischer Kohlenoxydvergiftungen umstritten bleiben. Die nachfolgenden Untersuchungen versuchen die spezifisch toxische Wirkung des Kohlenoxyds im Tierversuch durch den Vergleich der Auswirkungen der Kohlenoxydvergiftungen und der reinen Anoxämie auf das Verhalten des Blutzuckers zu beweisen.

Die von uns in einer früheren Arbeit niedergelegten klinischen Untersuchungen über das Verhalten des Blut- und Liquorzuckers und des Kohlenhydratstoffwechsels bei der akuten Kohlenoxydvergiftung des Menschen bildeten den Ausgangspunkt für unsere experimentellen Untersuchungen. Wir hatten in einem großen Teil der Fälle (57 %) ein deutliches Ansteigen des Blutzuckers mit nachfolgendem langsamem Abfall zur Norm beobachten können. Interessanterweise zeigten auch die Staubschen Belastungskurven kurz nach der Vergiftung oft ausgesprochen pathologische, d. h. zum Teil diabetische Kurvenbilder, die namentlich bei schweren Fällen über mehrere Tage bestehen blieben, und nur langsam wieder zur Norm zurückkehrten. Auf Grund dieser Beobachtungen überprüften wir vorerst, ob im Tierexperiment diese Erhöhung des Zuckerspiegels ebenfalls auftritt, und ob hierbei ein verschiedenes Verhalten der CO-Vergiftung und der reinen Anoxämie (Stickstoff mit wenig Sauerstoff) festzustellen ist.

I. Tierversuche.

Eine Blutzuckererhöhung ist in experimentellen CO-Vergiftungen bei Mäusen von Schulze, bei Kaninchen von Isimaru und bei Hunden von Thiel festgestellt worden. Unsere Versuche mit weißen Mäusen ergaben

in den meisten Fällen einen deutlichen Blutzuckeranstieg. Fortlaufende Untersuchungen am gleichen Tier zeigten aber, da die technische Entnahme genügender Blutmengen namentlich bei kollabierten Tieren auf Schwierigkeiten stieß, so große Fehlerquellen, daß wir zu Versuchen mit Kaninchen übergingen. Hier beobachteten wir während und nach der CO-Vergiftung mit großer Regelmäßigkeit eine erhebliche Blutzuckererhöhung — was auch schon von Isimaru festgestellt worden ist — und es zeigte sich bei zahlreichen Kontrolluntersuchungen des Nüchternblutzuckers eine weitgehende Konstanz und Unabhängigkeit von anderen Faktoren, so daß alle weiteren Versuche mit Kaninchen durchgeführt wurden.

Unsere Versuche gliedern sich in drei Hauptgruppen: Erstens in die Vorversuche, in denen der Einfluß eventuell störender Faktoren (Technik usw.) auf das Verhalten des Blutzuckers kontrolliert wurde; zweitens in die eigentlichen Kohlenoxydversuche, wobei der Einfluß bestimmter CO-Spannungen und Einwirkungszeiten auf den Blutzucker näher untersucht wurden. Die dritte Gruppe umfaßt diejenigen Versuche, in denen durch Stickstoff mit wenig Sauerstoffzusatz reine Anoxämien erzeugt wurden. Bevor wir die eigentlichen Versuchsergebnisse wiedergeben, sei vorerst die angewandte Technik kurz besprochen.

Alle Blutzuckerbestimmungen wurden nach der Methode von Hagedorn-Jensen durchgeführt. Die Blutentnahme von je zweimal 0,1 ccm für jede Bestimmung erfolgte aus der Vena marginalis der Ohrmuschel, es wurden immer Doppelbestimmungen ausgeführt. Die Versuche wurden einerseits in einen luftdicht verschließbaren Gaskasten von 210 Liter Inhalt, andererseits durch Anlegen speziell konstruierter Gasmasken durchgeführt. Die Kastenversuche boten den Vorteil, die Tiere durch ein luftdicht eingekittetes Glasfenster ohne äußere Beunruhigung ungestört beobachten zu können, erlaubten aber nur eine Kontrolle des Blutzuckers nach Entnahme der Tiere aus dem Gaskasten. In den Gasmaskenversuchen war eine fortlaufende Kontrolle des Blutzuckers auch während der CO-Einwirkung möglich, als Nachteil ergab sich aber hier öfters eine gewisse Beunruhigung der Tiere durch die angelegte Maske. Beide Methoden ergänzten sich deshalb gegenseitig. Die Darstellung des Kohlenoxydgases erfolgte aus Ameisen- und Schwefelsäure, worauf das Gas durch eine Vorlage mit Natronlauge von eventuellen Kohlensäurebeimengungen gereinigt wurde. In den Kastenversuchen wurde die gewünschte CO-Spannung nach Einsetzen des Tieres durch Einfüllen einer abgemessenen CO-Menge mittels eines angeschlossenen Ventils erreicht. Die von den Tieren ausgeatmete Kohlensäure wurde durch Natronkalk neutralisiert. Dies muß besonders hervorgehoben werden, da Cordier nachgewiesen hat, daß durch CO_2-Einatmung ebenfalls eine Blutzuckersteigerung auftritt. In den Versuchen mit sauerstoffarmen Stickstoffgemischen wurde die vorhandene Sauerstoffspannung in einer entnommenen Gasprobe mit der Pyrogallolmethode genau kontrolliert. Zur Erlangung der gewünschten Spannungen wurde der Gaskasten eine bestimmte Zeit mit Stickstoff durchgespült und das austretende Gasgemisch in einem angeschlossenen Gasometer aufgefangen, um dann nochmals durch den Kasten geschickt zu werden. Durch die Bestimmung der in einer gewissen Zeit durchgespülten Gasmenge mittels des Gasometers gelang es empirisch, die Sauerstoffspannung im Gaskasten auf ganz bestimmte Werte herabzusetzen, die dann noch durch die quantitativen Sauerstoffbestimmungen nachkontrolliert wurden. In den letzteren Versuchen erfolgte der Einsatz der Tiere in den Kasten schon

vor Anschluß der Stickstoffbombe. In den Gasmaskenversuchen wurde den Tieren eine von uns speziell für diesen Zweck konstruierte Gasmaske angelegt und diese an einem Gasometer mit dem gewünschten CO-Luftgemisch oder einer bestimmten Sauerstoff-Stickstoffmischung angeschlossen. Ein innerhalb des Gasometers angebrachter Propeller sorgte für eine konstante Durchmischung des verwendeten Gasgemisches. Auch in den Kastenversuchen wurden einige Versuche (Versuch 60 65) bei eingesetztem Propeller zur besseren Durchmischung durchgeführt. Wenn möglich wurden immer Doppelversuche durchgeführt. Die Bestimmung des CO-Gehaltes im Blute erfolgte nach der Mikromethode von Hartmann und zur Kontrolle in fünf Fällen auch in 5—10 ccm Blut durch das Gerichtlich-Medizinische Institut der Universität Zürich (Prof. Zangger) nach der Phosphorsäure-Kupferchlorür-Methode und in 3 Fällen durch das Gerichtlich-Medizinische Institut der Universität Bern (Prof. Dettling)[1]. Für die genaueren Versuchsprotokolle und näheren technischen Angaben sei auf die Dissertation von Wildermuth verwiesen.

1. Vorversuche.

In den Vorversuchen wurden die eventuellen Einflüsse der Versuchsbedingungen beim Einatmen normaler Luft auf das Verhalten des Blutzuckers überprüft, um mit Sicherheit anderweitige Einflüsse ausschließen zu können. Die Fehlergrenze der Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen erwies sich bei exakter und sofortiger Verarbeitung als geringgradig und schwankte zwischen 2—4 mg%. Die normalen Schwankungen des Blutzuckers beim nüchternen Kaninchen nach einem einstündigen Aufenthalt im Gaskasten betrugen in acht Leerversuchen mit drei verschiedenen Tieren nie über 28 mg% (s. Abb. 1: + 14 mg%, + 4 mg%, + 5 mg%, + 2 mg%, + 28 mg%, + 23 mg%, + 9 mg%). In den Gas-

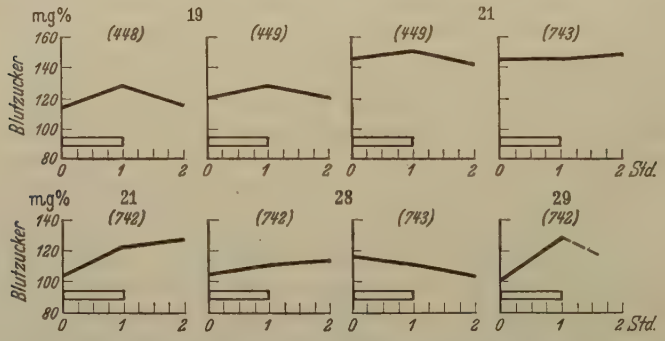


Abb. 1. Leerversuche (Gaskasten oder Gasmasken-Versuch, Kaninchen). Keine wesentlichen Schwankungen des Blutzuckers.

[1] Herrn Prof. Dr. Dettling (Gerichtlich-Medizinisches Institut der Universität Bern), Herrn P. D. Dr. Leuthard (Mediz. Chem. Institut der Mediz. Universitätsklinik Zürich), Herrn P. D. Dr. Schwartz vom Gerichtl. Mediz. Institut der Universität Zürich (Dir. Prof. Dr. Zangger) sei für die Bestimmung der Kohlenoxyd-Hämoglobinwerte unser bester Dank ausgesprochen.

maskenversuchen zeigt der Blutzucker beim Einatmen von Zimmerluft aus dem Gasometer nahezu konstante Werte (maximale Schwankung + 7 mg%) nach 1 Stunde. Der durchschnittliche Nüchternblutzuckerwert aus 40 Bestimmungen ergab 113 mg%, der Maximalwert betrug hierbei 149 mg%, der Minimalwert 84 mg%. Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß die Vorversuche mit Sicherheit keine Beeinflussung des Blutzuckers durch die Versuchsbedingungen an und für sich erkennen ließen, und daß in den Hauptversuchen jede Erhöhung des Blutzuckers um mehr als 30 mg% als sicher pathologisch zu bewerten ist.

2. Kohlenoxydversuche.

Um einen eventuellen spezifischen Einfluß des Kohlenoxyds, beim Fehlen einer gleichzeitigen ausgesprochenen Anoxämie, auf das Verhalten des Blutzuckers feststellen zu können, haben wir versucht, möglichst leichte CO-Vergiftungen hervorzurufen. Es zeigte sich hierbei bald, daß die bei den einzelnen Versuchen angewandten CO-Spannungen; der eingeatmeten Luft, keinen völlig sicheren Anhaltspunkt für den Grad der CO-Intoxikation bei den Versuchstieren ergaben. Einerseits vermischt sich das CO infolge seiner schlechten Diffusionseigenschaften nur ungenügend mit der umgebenden Luft des Gaskastens, und andererseits ist die Menge des in den einzelnen Versuchen auftretenden CO-Hämoglobins weitgehend von der Atem-Frequenz und -Tiefe der betreffenden Tiere abhängig. Wir versuchten die schlechten Diffusionsverhältnisse durch die Verwendung von Gasmasken mit angeschlossenem Gasometer und eingebautem Propeller und in den Versuchen 60—65 durch den Einbau eines Ventilators in den Gaskasten zu umgehen. Es zeigte sich nun, daß nicht die Spannung des vorhandenen Kohlenoxyds der eingeatmeten Luft, sondern nur der prozentual erreichte Sättigungsgrad des CO-Hämoglobins und das Fehlen von schweren Intoxikationszeichen bei den Tieren einen genaueren Anhaltspunkt über den Grad der vorliegenden CO-Vergiftung zuläßt. Wir haben deshalb die Versuche immer nur solange ausgedehnt, als die Tiere keine eigentlichen Intoxikationszeichen erkennen ließen. Die Einwirkungszeit schwankte zwischen $^1/_4$ bis 1 Stunde, die angewandten CO-Spannungen der Einatmungsluft zwischen 1—4‰. Alle Versuche (Nr. 35, 41 und 61), bei denen am Schluß der Versuche deutliche Vergiftungserscheinungen, wie Benommenheit, Lähmungen der hinteren Extremitäten, Krämpfe usw., in Erscheinung getreten waren, wurden für die Beurteilung ausgeschlossen. So zeigte das Tier in Versuch 61 eine typische Lähmung der hinteren Extremitäten, sowie deutliche Benommenheit, und hierbei fand sich im Blute ein prozentualer CO-Hämoglobingehalt von 60%. Dagegen ergaben die nachstehenden Versuche, beim Fehlen von sonstigen objektiven akuten Vergiftungserscheinungen, im Blut die folgenden CO-Hämoglobinwerte:

Versuchs-Nr.	Dauer der Einwirkung	CO-Hb. in % (*)	CO in Vol.-%	Verlauf des Blutzuckers in mg% vorher	sofort nachher	nach ½ h	nach 1½ h	nach 2½ h	Methode der CO-Bestimmung
8	½ Std.	21	—	102	162	166	145	104	Mikromethode (Hartmann)
32	1 „	19	—	149	348	359	340	303	
54	1 „	14	3,3	111	193	240	161	137	Kupferchlorürmethode
59	1 „	42	8,7	90	88 (?)	178	—	190	
60	1 „	24	5,6	119	325	293	150	115	
61	1 „	60	12,3	102	296	334	190	—	
62	1 „	16	4,6	126	148	138	—	—	
63	1 „	30	5,95	100	188	149	135	130	Van Slyke
64	1 „	38	7,45	124	175	143	127	125	
65	1 „	36	7,05	113	293	288	150	136	

* Die Werte in dieser Kolonne geben für die beiden obersten Versuche den prozentualen Gehalt an CO-Hämoglobin an, für die übrigen Versuche den prozentualen Sättigungsgrad, d. h. die aus dem Vergleich mit der maximal möglichen Absättigung mit CO (Versuch 54—62), oder die aus dem Vergleich mit der gefundenen Sauerstoffmenge in Vol.-% (Versuch 63—65) errechnete Sättigung des Hämoglobins. Da der Sauerstoffgehalt der Blutproben rascher abnimmt, sind die für die Versuche 63—65 errechneten CO-Sättigungsgrade höher ausgefallen, als sie in Wirklichkeit gewesen sein dürften.

Aus diesen Versuchen geht eindeutig hervor, daß schon bei einem prozentualen Gehalt des Blutes von rund 20—25% Kohlenoxyd-Hämoglobin ein sehr deutlicher Anstieg des Blutzuckers zu beobachten ist. Bei diesen CO-Hämoglobinwerten kann von einer eigentlichen Anoxämie noch nicht die Rede sein, und es handelt sich somit hier sehr wahrscheinlich um spezifische Wirkungen des Kohlenoxyds. In Abb. 2 sind alle Versuche, in denen es zu keinen schweren Vergiftungserscheinungen kam, graphisch

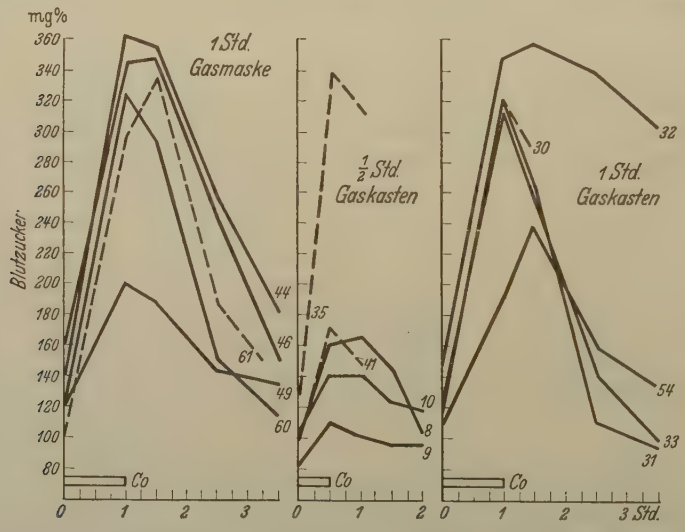


Abb. 2. Blutzuckerkurven bei leichten CO-Vergiftungen ohne Lähmungs- oder andere Asphyxieerscheinungen. CO-Hämoglobingehalt bei Versuch 54: 14%, Versuch 60: 24%, Versuch 32: 19,5%. Man beachte den ausgesprochenen Blutzuckeranstieg trotz dem Fehlen einer wesentlichen Anoxämie.

zusammengestellt. Im allgemeinen wurden die höchsten Blutzuckerwerte direkt im Anschluß an die Vergiftung oder eine halbe Stunde nachher beobachtet, um dann sukzessive in etwa $2^1/_2$ Stunden wieder zur Norm abzufallen. Der höchste Anstieg des Blutzuckers (+ 206 mg%) erfolgte im Versuch 60 bei einem CO-Gehalt des Blutes von 5,6 Vol.-%, was einem CO-Hämoglobin von rund 24% entspricht. Die Höhe des Blutzuckeranstiegs scheint von verschiedenen Faktoren abhängig zu sein, worauf wir unten zurückkommen werden. Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß Kaninchen bei akuten CO-Vergiftungen, die an und für sich noch nicht zu eigentlichen Anoxämien führen, sozusagen regelmäßig erhebliche Blutzuckeranstiege erkennen lassen.

3. Anoxämieversuche.

Verschiedene Versuche, die in Abb. 3 zusammengestellt sind, bei denen die einzelnen Kaninchen im Gaskasten in Gasgemische von Stickstoff mit 10% Sauerstoff gebracht wurden, ergaben weder nach $^1/_4$ noch nach $1^1/_2$ Stunden (Versuche 12, 13, 14, 36) einen Anstieg des Blutzuckers, obschon die Tiere bei diesen niederen Sauerstoffspannungen deutliche Anoxämieerscheinungen zeigten. Auch der Versuch 37, in welchem die

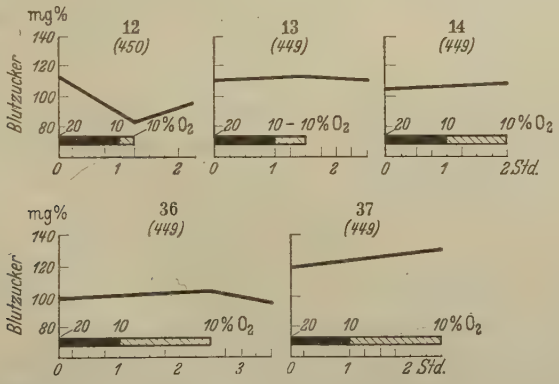


Abb. 3. Blutzuckerkurven bei Anoxämien durch ein Luft-Stickstoffgemisch mit 10% Sauerstoff, Gaskastenversuche. Innerhalb der ersten Stunde Senkung des Sauerstoffgehaltes von 20 auf 10%, dann je nach Versuch $^1/_4$—$2^1/_2$ Std. bei 10% (schraffierte Streifen). Die eingeklammerten Zahlen betreffen die Tiernummer. Man beachte das Fehlen eines Blutzuckeranstieges trotz der niedrigen Sauerstoffspannung.

Spannung von 20% Sauerstoff innerhalb 2 Stunden auf 8% Sauerstoff vermindert wurde (Kontrolle durch Bestimmung des Sauerstoffgehalts im Gaskasten mittels Pyrogallol) und wobei das Versuchstier dann noch während einer halben Stunde bei dieser niederen Spannung belassen wurde, ergab keine deutliche Erhöhung des Blutzuckers. In all diesen Versuchen mit Konzentrationen von 8—10% Sauerstoff bestanden bei den Tieren deutliche Zeichen einer Anoxämie, wie Cyanose der Nase und Ohrmuschel und dunkelrote Verfärbung des entnommenen Blutes, trotzdem stieg aber

der Blutzucker nicht an. Leider standen uns die etwas schwierigen Methoden der Bestimmung der Sauerstoffspannung im Blute nicht zur Verfügung, was für den Vergleich mit den in den CO-Versuchen erhobenen Kohlenoxydhämoglobinwerten wertvoll gewesen wäre.

Die zweite Gruppe der Anoxämieversuche betrifft diejenigen Untersuchungen, in denen mit Sauerstoffspannungen von 6% und weniger gearbeitet wurde (Abb. 4: Versuche 40, 47, 42, 50, 51, 52). Hier traten schwere Asphyxieerscheinungen auf und die Tiere verloren zum Teil das Bewußtsein. Die erhobenen Blutzuckerkurven zeigen in dieser Gruppe alle ein deutliches, aber quantitativ sehr verschieden hohes Ansteigen des Blutzuckers. Wie aus den in Abb. 3 wiedergegebenen Kurven hervorgeht, schwanken die Blutzuckeranstiege bei gleichen Versuchsanordnungen und bei nachkontrollierter Sauerstoffspannung von Tier zu Tier. So ergaben z. B. die beiden Versuche 40 und 47 bei 6% O_2 — der erstere ein Gasmasken-, der letztere ein Gaskastenversuch —, beide einen relativ geringgradigen Anstieg (+ 96, + 37 mg%), während die Versuche 42 und 50 bei ebenfalls 6% Sauerstoff zu viel erheblicheren Anstiegen führten (+ 186, + 111 mg%). Im Versuch 51 blieb der Anstieg trotz nur 5% O_2 relativ niedrig und betrug nur 56 mg%, das gleiche Tier ergab im Versuch 47 bei 6% O_2, den wir oben erwähnten, wieder nur einen geringgradigen Anstieg (+ 37). Im Versuch 52 wurde mit nur 4% O_2 gearbeitet, es trat ein hoher Blutzuckeranstieg von + 188 mg% in Erscheinung, doch kam das Tier an Asphyxie beinahe ad exitum. In zwei weiteren Versuchen mit 6% Sauerstoff konnten die Blutzuckerwerte nicht mehr bestimmt werden, da die Tiere der Asphyxie erlagen. Das Ansteigen des Blutzuckers bei Anoxämien ist schon längere Zeit bekannt (s. Pollack). Starkenstein betrachtet denselben als eine Folge der Erregung gewisser Gehirnzentren, die sich mit der Wirkung einer eventuellen Adrenalinämie kombiniert.

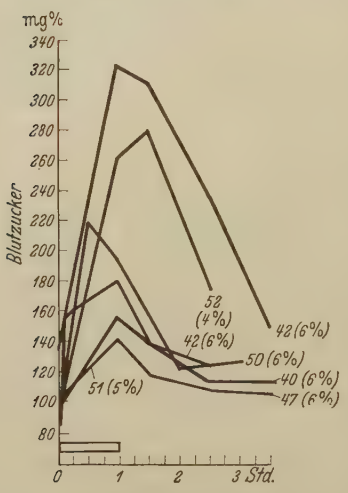


Abb. 4. Blutzuckerkurven bei Anoxämien im Bereiche der Erstickungsgrenze. Stickstoff-Sauerstoffmischungen mit 6—4% Sauerstoff. Hier treten deutliche Blutzuckeranstiege in Erscheinung.

Die Ergebnisse dieser Anoxämieversuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Sauerstoffspannungen von 8—10% führen beim Kaninchen sowohl im Gaskasten- als auch im Gasmaskenversuch zu deutlichen Asphyxieerscheinungen, bewirken aber auch bei einstündiger Versuchsdauer kein deutliches Ansteigen des Blutzuckers. Lediglich, wenn die Sauerstoff-

spannung der umgebenden Luft bis zur Erstickungsgrenze herab vermindert wird (6—4% während 1 Stunde), zeigt der Blutzucker eine deutliche Erhöhung.

4. Einfluß der Glykogenanreicherung und des Insulins auf das Verhalten des Blutzuckers bei der CO-Vergiftung.

Um den Einfluß der Glykogenanreicherung auf die bei CO-Vergiftungen zu beobachtenden Blutzuckersteigerungen zu untersuchen, wurden einem Kaninchen, welches im nüchternen Zustande (Versuch 35) einen Blutzuckeranstieg auf 339 mg% gezeigt hatte, nun vor dem Versuch 3 g Glucose durch eine Oesophagussonde verabreicht und anschließend

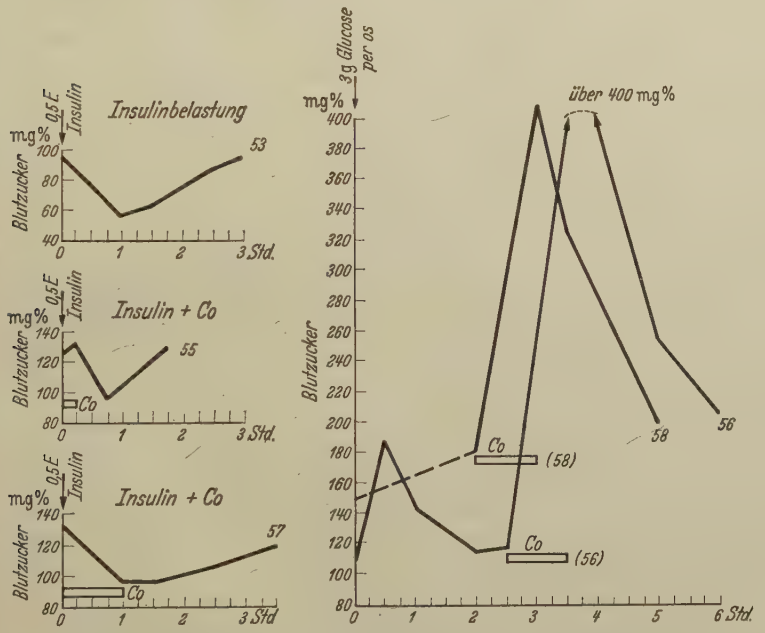


Abb. 5. Einfluß des Insulins und der Glykogen-Anreicherung auf den Verlauf der Blutzuckerkurve bei der akuten CO-Vergiftung.

a (linke Hälfte): Versuch 53, 55 und 57 (Tiernummer 747) zeigen deutlich, wie durch das Insulin der Blutzuckeranstieg der akuten CO-Vergiftung aufgehoben werden kann.

b (rechte Hälfte): Versuch 56 und 58 (Tiernummer 745) zeigen, wie der Anstieg des Blutzuckers durch eine 2 Stunden vorausgehende Glucoseverabreichung (ohne Insulin), d. h. durch eine Glykogenanreicherung, verstärkt wird (Versuch 44 und 46, Abb. 2, stammen vom gleichen Tier), indem nun ein extrem hoher Blutzuckeranstieg erfolgt.

zuerst der Verlauf der Blutzuckerkurve beobachtet. Wie aus Abb. 5b hervorgeht, erreichte der Zuckerspiegel nach einem anfänglichen Anstieg nach 2 Stunden wieder den Ausgangswert. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Tier in die gleiche CO-Atmosphäre des Gaskastens gebracht und 1 Stunde darin gelassen; es trat hierauf ein Ansteigen des Blutzuckers bis

über 400 mg% auf. Einen so hohen Anstieg hatten wir noch nie beobachten können. Der Versuch wurde am folgenden Tage mit dem gleichen Tier nochmals wiederholt (Versuch 58, Abb. 5b) und ergab wiederum einen Anstieg bis auf 410 mg%. Diese Versuche zeigen somit, daß eine vorherige Glucoseverabreichung, welche eine Glykogenanreicherung der Leber zur Folge hat, die während und nach einer CO-Vergiftung auftretende Erhöhung des Blutzuckers in verstärktem Maße in Erscheinung treten läßt.

Aus den beiden obigen Versuchen ging hervor, daß es sich bei der Blutzuckersteigerung im Anschluß an die CO-Vergiftung um eine Glykogenausschwemmung handeln mußte. Im gleichen Sinne sprechen auch die Versuche von Schulze, der nach CO-Vergiftungen bei Mäusen eine Glykogenverarmung der Leber feststellen konnte. Es wurde von uns ferner der Einfluß des Insulins auf den Ablauf der Blutzuckerkurve mit und ohne CO-Einwirkung untersucht. Dies ist im Tierversuch schon früher durch Isimaru geschehen, und wir konnten seine Beobachtung voll bestätigen. Abb. 5a zeigt den Verlauf der Blutzuckerkurve eines nüchternen Kaninchens (Versuch 53) nach der Injektion von 0,5 Einh. Insulin (= 0,28 Einh. Insulin pro kg Körpergewicht bei 1,8 kg Körpergewicht). Der Blutzucker sank hierbei in 1 Stunde von 96 auf 56 mg% und erreichte langsam ansteigend nach $3^1/_2$ Stunden wieder die Norm, d. h. es trat hier ungefähr die gleiche hypoglykämische Kurve in Erscheinung, wie sie beim Menschen nach analoger Dosierung aufzutreten pflegt. Das gleiche Kaninchen wurde am folgenden Tage direkt im Anschluß an die Injektion von $^1/_2$ Einh. Insulin 1 Stunde lang in den Gaskasten mit $4^0/_{00}$ CO (Versuch 55), und in einem 2 Tage später ausgeführten Versuch (Nr. 57) mit $3^0/_{00}$ CO gebracht. Wie aus diesen beiden Kurven deutlich hervorgeht, blieb hier der sonst regelmäßig bei solchen Konzentrationen aufgetretene Anstieg des Blutzuckers nun vollkommen aus. Das Insulin vermag somit den nach CO-Einwirkung auftretenden Anstieg des Blutzuckers zu verhindern.

II. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Über das eigentliche Wesen der CO-Vergiftung stehen sich von jeher zwei Ansichten scharf gegenüber (Literatur bei Barkan). Auf der einen Seite die Verfechter der Anoxämielehre, welche alle durch die CO-Vergiftungen ausgelösten Schädigungen auf eine durch die Blockierung des Hämoglobins für den Sauerstofftransport bedingte Anoxämie zurückführen; auf der andern Seite diejenigen Forscher, die dem CO neben der asphyktischen Eigenschaft noch spezifisch toxische Wirkungen zuschreiben. Hand in Hand mit dieser Frage geht die Diskussion über die Existenz oder Nichtexistenz der sogenannten „chronischen CO-Vergiftungen". Wie sind nun die obigen Versuche in dem einen oder andern Sinne zu bewerten?

Aus den Ergebnissen derselben geht deutlich hervor, daß beim Kaninchen schon ein erheblicher Blutzuckeranstieg in Erscheinung tritt, wenn 20—25% des Hb. durch CO abgesättigt sind, d. h. bei einer CO-Hämoglobinkonzentration, die noch nicht zu einer eigentlichen Anoxämie führen kann. Verursacht man durch eine nur wenig Sauerstoff enthaltende Gasmischung von Stickstoff und Sauerstoff (8—10% O_2) bei den gleichen Tieren deutliche, aber nicht tödliche Anoxämien, so beobachtet man noch keine Erhöhung des Zuckerspiegels. Erst wenn der Sauerstoffgehalt bis an die Erstickungsgrenze vermindert wird (6—4% Sauerstoff), tritt auch hier ein deutlicher Blutzuckeranstieg in Erscheinung. Dieses Ansteigen des Blutzuckers bei der akuten CO-Vergiftung des Kaninchens ist also nicht Folge einer Anoxämie, sondern Folge einer spezifischen Wirkung des CO. Es lassen sich nun beim Menschen, wie wir dies in einer früheren Arbeit besprochen haben, in einem großen Teil der akuten CO-Vergiftungen (57%), ebenfalls solche Blutzuckeranstiege beobachten. Im Anschluß an die Vergiftung nehmen außerdem die Staubschen Belastungskurven eine pathologische Form an, die zum Teil an die Kurven bei Diabetes mellitus erinnern und die nur allmählich innerhalb Tagen wieder zur Norm zurückkehren, was auf tiefgreifende Störungen im Kohlehydratstoffwechsel hindeutet. Beim Menschen und Kaninchen zeigt sich also bei der akuten CO-Vergiftung ein gleichsinniges Verhalten des Blutzuckers, und wir sind daher der Auffassung, daß mit großer Wahrscheinlichkeit die in den obigen Tierversuchen gemachten Feststellungen über das verschiedene Verhalten des Blutzuckers bei der CO-Vergiftung und bei einer reinen Anoxämie auch für den Menschen Gültigkeit haben. Die obigen Untersuchungen erbringen den Beweis für eine spezifische Wirkung des CO im Tierversuch — dabei sei aber die Bedeutung der Anoxämie für die schweren CO-Vergiftungen keineswegs bestritten — und machen eine solche für die CO-Vergiftung des Menschen auf alle Fälle sehr wahrscheinlich. Dies um so mehr, wenn wir noch alle andern Momente in Betracht ziehen, die schon durch frühere Forschungen über die spezifischen Eigenschaften des Kohlenoxyds zutage gefördert worden sind und auf die wir unten noch eingehen wollen. Hervorheben möchten wir hier noch, daß es für die Tatsache des verschiedenen Verhaltens des Blutzuckers bei leichten CO-Vergiftungen und mittelschweren Anoxämien gar keine Rolle spielt, auf was für einem Wege, d. h. durch welchen Mechanismus eigentlich im Organismus dieses Ansteigen des Blutzuckers erfolgt.

Es ist schwer, die eigentliche Ursache zu erfassen, die der festgestellten Zuckererhöhung in Blut und Liquor, sowie der pathologischen Veränderung der Staub-Kurve nach der akuten CO-Vergiftung zugrunde liegt, und es ist auch nicht das eigentliche Ziel dieser Arbeit, diesen Vorgang näher zu klären. Wie auch der eigentliche Mechanismus vor sich gehen mag, das Wesentliche liegt in dem Auftreten dieser Veränderung bei schon relativ niederen CO-Hämoglobinwerten und in dem verschiedenen Ver-

halten der CO-Vergiftung und der Anoxämie. Die Regulation des Kohlehydratstoffwechsels erfolgt bekanntlich durch ein kompliziertes System verschiedener Organe, die aber wahrscheinlich alle von einem oder mehreren Zentren, die womöglich im Zwischenhirn liegen, gesteuert werden. Für einen zentralen Reiz, der peripher zu einer Glykogenausschüttung führt, sprechen beim Menschen der von uns beobachtete erhöhte Liquorzucker und die in einigen Fällen über mehrere Tage andauernde Erhöhung des Blutzuckers sowie wahrscheinlich auch die pathologischen Staubkurven. Es ist in diesem Zusammenhang sehr interessant, daß kürzlich Voss über ganz analoge, lang persistierende Veränderungen der Staub-Kurven bei Commotio cerebri berichtet hat. Mit ziemlicher Sicherheit kann angenommen werden, daß die Blutzuckererhöhung im Blute durch eine Glykogenausschwemmung der Leber zustande kommt, sonst wäre der hemmende Einfluß des Insulins, wie wir ihn in Bestätigung zur Beobachtung von Isimaru nachweisen konnten, kaum zu verstehen. Auch der höhere Blutzuckeranstieg nach vorheriger Glucoseverabreichung (Glykogenanreicherung der Leber) spricht in diesem Sinne (Versuche 56 und 58). Es ist aber vorläufig nicht möglich, bei der CO-Vergiftung neben einer zentralen auch andere Störungen, wie z. B. einen Verlust des Glykogen-Fixierungsvermögens der Leberzellen oder eine Störung in der Nebennierenfunktion (Isimaru), sicher auszuschließen. Thiel denkt an einen Zusammenhang mit dem Abfall des Kohlensäuregehalts im Blute, da beide Erscheinungen parallel verlaufen sollen; durch dieses Moment ist aber der Anstieg des Blutzuckers bei niederen CO-Hämoglobinwerten kaum zu erklären. Es ist unwahrscheinlich, daß die Blutzuckersteigerung lediglich die Folge einer Adrenalinausschüttung darstellt, wie dies von Tscherkess vermutet wird, da beim Menschen die lange anhaltende Blutzuckererhöhung und die pathologischen Staub-Kurven hierdurch nicht zu erklären sind.

Bevor wir auf diejenigen Momente eingehen, die für die spezifischen Wirkungen des Kohlenoxyds sprechen, seien zuerst einige Argumente gegen die spezifisch-toxische Wirkung des CO angeführt und besprochen. Die nach CO-Vergiftung im Ekg. auftretenden Veränderungen (Christ, Litzner, Steinmann u. a.) können weder sicher für die eine noch die andere Anschauung verwertet werden. Gleichsinnige Veränderungen sind experimentell auch bei reinen Anoxämien beobachtet worden und entsprechen nach den Untersuchungen von Christ umschriebenen Myokardnekrosen. Unter den Gegenargumenten seien hier vor allem die Versuche von Haldane, Mosso und Gréhant erwähnt; für die weitere Literatur verweisen wir auf die umfassenden Darstellungen von Lewin und Barkan. Die obigen drei Autoren stellten übereinstimmend fest, daß die Einwirkungen des CO auf den Organismus weitgehend ausgeschaltet werden können, wenn der Druck des eingeatmeten Luft-CO-Gemisches auf 2—3 Atmosphären gesteigert wird. Die Autoren sind der Ansicht, daß infolge des höheren Druckes die gesteigerte Löslichkeit des Sauerstoffs im

Serum die durch das Kohlenoxyd-Hämoglobin bedingte Anoxämie wiederum kompensiert. Aus diesen Versuchen wurde dann auf eine rein asphyktische Wirkung des CO geschlossen. Nach den noch zu besprechenden Versuchen von Warburg und Barkan scheint das CO hauptsächlich als ein Schwermetallgift aufgefaßt werden zu müssen. Es ist aber sehr wohl möglich, daß die chemischen Reaktionen zwischen CO und Schwermetallverbindungen bei höheren Sauerstoffdrucken ebenfalls anderen Gesetzen gehorchen als bei normalen oder unternormalen Sauerstoffspannungen des Blutserums und Zellplasmas. Solange aber Untersuchungen hierüber fehlen, wird dieses Gegenargument nicht zu widerlegen sein. Von den Vertretern der Anoxämielehre werden auch die Ergebnisse von Haggard an Gewebskulturen von embryonalem Hühnerhirn, die auch bei hohem CO-Gehalt der umgebenden Atmosphäre keine Wachstumshemmung zeigten, als beweisend für die Harmlosigkeit des CO für das Protoplasma der Nervenzellen aufgeführt. Mit Recht betont aber Barkan, daß dieses Moment nicht stichhaltig ist, da solche Zellen ihren Energiebedarf weitgehend durch anaerobiotische, gärungsartige Vorgänge decken. Auch die Tatsache der Ungiftigkeit des Kohlenoxyds für verschiedene Insekten (Süpfle) darf nicht ohne weiteres als ein Beweis für die Harmlosigkeit des CO als Zellgift verwertet werden, da hier ganz andere Verhältnisse vorliegen als beim Säugetier.

Wenden wir uns nun der Betrachtung derjenigen Momente zu, die schon früher von anderen Forschern als spezifische Wirkungen des CO aufgefaßt worden sind. Von zahlreichen Autoren werden immer wieder die grundlegenden Versuche von Warburg über die Hemmung des gelben Atemferments angeführt. Wie aber Barkan und andere hervorheben, können diese Versuche — wie interessant sie auch an und für sich sind — keineswegs als beweisend für eine direkte CO-Wirkung angesehen werden, denn eine solche Hemmung des Warburgschen Atemferments tritt erst unter sehr hohen CO-Spannungen (70% CO!) in Erscheinung, wie sie bei den klinisch zur Beobachtung kommenden Vergiftungen gewöhnlich nicht vorliegen. Wie Barkan im übrigen hervorhebt, wird diese Beeinträchtigung des Atemferments im Organismus durch die höhere Affinität des Sauerstoffs zum Atemferment ausgeglichen. Die Verhältnisse liegen also hier gerade umgekehrt wie beim Hämoglobin, und es bedarf deshalb einer sehr hohen CO-Spannung, bevor überhaupt das CO zur Wirkung kommt. Man muß ferner beachten, daß bei all diesen in vitro ausgeführten Versuchen über die Beeinflussung des Zellstoffwechsels durch das CO die Experimente unter Lichtausschluß durchgeführt werden müssen, da die Verbindung des CO mit dem Atemferment unter Lichteinwirkung wieder zerfällt (Warburg, Schmitt). Schlayer fand bei Gasbrand- und Tetanusbazillen, sowie bei gewissen Gärungserregern schon bei CO-Konzentrationen von 3—10% eine Hemmung des Bakterienwachstums. Diese Wirkung wurde durch die Belichtung aufgehoben, was nach Schlayer

ebenfalls für eine Verbindung des CO mit einem eisenhaltigen Ferment spricht.

Im Gegensatz zu dieser nur geringgradigen Affinität des CO zum Warburgschen Atemferment scheint die hohe Affinität des CO zum „leicht abspaltbaren Bluteisen von Barkan" von großer Bedeutung zu sein. So stellte Barkan bei CO-Vergiftungen mit nur 10% CO-Hämoglobin schon eine Blockierung des leicht abspaltbaren Bluteisens von bis zu 40% fest. Diese Untersuchungen sind später von Schwarz und Deckert an Hand von 30 Fällen bestätigt worden. Im Zusammenhang mit dieser hohen Affinität des CO zum leicht abspaltbaren Bluteisen ist von Barkan und anderen darauf hingewiesen worden, daß auch die am häufigsten betroffenen Gehirnteile, wie z. B. die Zwischenhirnkerne (Pallidum), einen hohen Eisengehalt aufweisen (Spatz). Solange aber nicht auch die erhöhte Affinität dieses „Zelleisens" zum Kohlenoxyd bewiesen ist, bleibt der Zusammenhang zwischen dem Eisengehalt der Zentren und der durch das Kohlenoxyd gesetzten Schädigung noch unbewiesen.

Das Eisen und andere Schwermetalle übernehmen im Zellstoffwechsel die Rolle von intermediären Sauerstoffüberträgern (Warburg), es wäre daher naheliegend, auch diese durch das CO gesetzten zentralen Störungen als durch CO ausgelöste intracelluläre Anoxämien aufzufassen. Hier muß aber hervorgehoben werden, daß es sich in diesem Falle um eine direkte spezifische Wirkung des Kohlenoxyds auf den Zellstoffwechsel selbst handeln würde und nicht nur um eine gewöhnliche Anoxämie. Alle diese Versuchsergebnisse scheinen die Auffassung von Warburg zu bestätigen, daß das CO auch im Organismus als ein Schwermetallgift aufzufassen ist.

Bock sowie später Haggard und Henderson fanden bei experimentellen CO-Vergiftungen trotz schwerer asphyktischer Erscheinungen einen normalen Sauerstoffverbrauch. Diese Beobachtung scheint nach den gleichen Untersuchern auf die „Blockierung" von gewissen Gehirnzentren durch eine spezifische Giftwirkung des CO hinzuweisen. Die gleichen Autoren heben hervor, daß die reine Anoxämie, wie z. B. die Stickstoffatmung im Gewebe, zu einer Acidose, das Kohlenoxyd zu einer Alkalose führt. Diese letztere Feststellung steht allerdings im Gegensatz zu den Untersuchungen von Thiel, der bei CO-Vergiftungen trotz einer Abnahme des Kohlensäuregehalts eine Verschiebung gegen die acidotische Seite hin beobachtete.

Interessanterweise konnten verschiedene Untersucher eine spezifische Beeinflussung der Schilddrüse durch Kohlenoxyd nachweisen. Klinisch sind nach CO-Vergiftungen aufgetretene akute Basedowfälle von Raab und Baader mitgeteilt worden. In dem von Baader beobachteten Falle entwickelte sich schon 2 Tage nach der Vergiftung ein deutlicher Exophthalmus. Schulze konnte bei Meerschweinchen durch wiederholte CO-Vergiftungen histologisch deutlich erkennbare Schilddrüsen-Hypertrophien auslösen, die auch mit Grundumsatzsteigerungen (Kampelmann

und Schulze) einhergingen. Die Untersuchungen sind später von Raploh bestätigt worden. Gleichsinnige Versuche, in denen geprüft wurde, ob sich solche Schilddrüsenveränderungen auch durch wiederholte Anoxämien auslösen lassen, führten zu negativen Resultaten. Schulze schließt aus diesem Moment ebenfalls auf eine spezifische Wirkung des Kohlenoxyds. Der nähere Mechanismus dieser Schilddrüsenaktivierung durch das CO ist noch ungeklärt. Die Thyreoidea wird bekanntlich ebenfalls von der Zwischenhirngegend aus gesteuert, man könnte sich daher fragen, ob bei der erwähnten Häufigkeit von durch CO-Vergiftungen ausgelösten Zwischenhirnstörungen nicht auch diese Veränderungen durch eine solche Schädigung bedingt sein könnten, was vorläufig allerdings eine reine Hypothese bleibt.

Wie wir oben ausführten, sprechen auch einige Momente dafür, daß die im Anschluß an die CO-Vergiftung beim Menschen feststellbaren Störungen des Kohlehydratstoffwechsels vielleicht auf Schädigungen gewisser Regulationszentren der Zwischenhirngegend zurückzuführen sind. Neuere Untersuchungen zeigen, daß das „Vasomotorenzentrum“[1], das ebenfalls in die Zwischenhirngegend zu lokalisieren ist, bei der CO-Vergiftung toxisch geschädigt wird. Brewer untersuchte experimentell den verschiedenen Einfluß der Stickstoffatmung und der CO-Vergiftung auf den Blutdruck. Hierbei machte er die interessante Feststellung, daß die Stickstoffatmung, d. h. eine reine Anoxämie, ein erhebliches Ansteigen des Blutdrucks bewirkt, während die CO-Vergiftung einen Abfall des Blutdrucks hervorruft. Diese Untersuchungen sind von Kayser aufgegriffen und erweitert worden. Es gelang ihm nachzuweisen, daß bei Zusatz von CO zu einem Sauerstoff-Kohlensäuregemisch oder zu reinem Stickstoff, welche sonst beide eine Blutdrucksteigerung hervorrufen, diese Blutdrucksteigerung nicht in Erscheinung tritt. Nach seinen Versuchen ist diese Reaktion des Kohlenoxyds als eine zentrale Wirkung auf das „Vasomotorenzentrum“ und nicht als eine periphere Beeinflussung vasosensibler Zonen aufzufassen, da auch bei Konzentrationen von 50 % CO-Hämoglobin diese vasosensiblen Zonen in keiner ihrer Funktionen beeinflußt werden.

Kayser vertritt die Auffassung, daß für die toxische Beeinflussung des Vasomotorenzentrums durch das CO nicht das an das Hämoglobin gebundene CO, sondern vor allem das im Blutserum gelöste CO verantwortlich zu machen ist. Bei der hohen Affinität des CO zum Hämoglobin ist es viel wahrscheinlicher, daß das im Serum gelöste CO für das Zustandekommen der spezifischen Giftwirkungen die größere Rolle spielt, als das sehr stabil an den Blutfarbstoff gebundene Kohlenoxyd.

Es ist von großem Interesse, daß auch die Ergebnisse der obigen Versuche von Brewer und Kayser zur Feststellung einer spezifisch

[1] Nach Hess gibt es kein eigentliches Vasomotorenzentrum, sondern nur verschiedene einander koordinierte Zellgruppen des Zwischenhirns, die zusammen die Regulation der Vasomotoren übernehmen.

toxischen Wirkung des Kohlenoxyds auf nervöse Zentren geführt haben. Es ist sehr wahrscheinlich, daß in beiden Fällen, d. h. bei der Hemmung der Blutdrucksteigerung, sowie beim Ansteigen des Blutzuckers, die Störungen infolge der Einwirkung des CO auf gewisse Zentren des Zwischenhirns zustande kommen. Wahrscheinlich lassen sich bei einem genauen experimentellen Studium noch weitere Momente feststellen, die ebenfalls für die spezifisch toxische und nicht nur für die sekundär anoxämische Wirkung des CO sprechen.

Obschon unsere obigen Versuche keineswegs das eigentliche Gebiet der chronischen CO-Vergiftung, sondern vielmehr der akuten Vergiftung betreffen, möchten wir doch kurz auf einige Folgerungen hinweisen, die sich aus unsern Versuchsresultaten für die umstrittene Frage der chronischen CO-Vergiftung ergeben. Wenn die nach CO-Vergiftungen auftretenden Schädigungen lediglich als Folgen einer Anoxämie aufzufassen sind, wie dies bisher von der Mehrzahl der Autoren angenommen wurde, so sind bei Einwirkungen kleiner CO-Spannungen, die an und für sich noch gar keinen Sauerstoffmangel bedingen, auch keine organischen Schädigungen zu erwarten. Sobald aber der Nachweis spezifisch toxischer Wirkungen des CO beim gleichzeitigen Fehlen einer Anoxämie gelungen ist, so ist prinzipiell auch die Möglichkeit der chronischen Kohlenoxydvergiftung zuzugeben. Hierunter versteht man die eventuellen Folgeerscheinungen einer über längere Zeit kontinuierlich oder diskontinuierlich fortgesetzten Einatmung kleiner CO-Mengen, die im Moment der Einwirkung noch keine schwereren toxischen Symptome hervorrufen. Es wäre denkbar, daß durch die Summation wiederholter Einwirkungen an und für sich kleiner CO-Mengen, infolge einer spezifischen Beeinflussung bestimmter Zellgruppen, länger dauernde Schädigungen zustande kommen könnten. Bewiesen ist durch die Feststellung spezifisch-toxischer Wirkungen des Kohlenoxyds die Existenz einer chronischen CO-Vergiftung noch keineswegs, sie rückt damit aber in den Bereich der Möglichkeit. Mehrere Beobachtungen der Literatur scheinen aber sehr für das Vorkommen solcher Fälle zu sprechen (Symanski; Beck, Schulze und Suter u. a.).

Gegenüber der chronischen CO-Vergiftung sollte heute unfallmedizinisch nicht mehr eine rein ablehnende Stellung eingenommen werden, da doch zahlreiche Momente für die Möglichkeit dauernder Schädigungen durch die Summation der Einwirkung kleiner Kohlenoxydmengen sprechen, obschon diese im Moment ihrer Einwirkung noch keine schweren Intoxikationszeichen zu bedingen brauchen.

Zusammenfassung.

Auf Grund unserer früheren klinischen Untersuchungen über die Störungen des Zuckerstoffwechsels bei der akuten Kohlenoxydvergiftung wurde in tierexperimentellen Versuchen an Kaninchen das Verhalten des

Blutzuckers bei CO-Vergiftungen und bei Anoxämien untersucht und miteinander verglichen. Die Ergebnisse dieser Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Bei leichten CO-Vergiftungen, mit einer Einwirkungsdauer der CO-Atmosphäre von $^1/_4$—1 Stunde Dauer und in denen die Tiere keine eigentlichen Vergiftungserscheinungen erkennen ließen, traten schon bei CO-Hämoglobinwerten von 20—25% sehr ausgesprochene Blutzuckeranstiege in Erscheinung (bis zu + 206 mg%). Unter den gleichen Bedingungen, aber ohne CO-Einwirkungen durchgeführte Kontrollversuche ergaben keine Veränderung der Blutzuckerwerte. Bei CO-Hämoglobinwerten von 20—25% kann von einer eigentlichen Anoxämie noch nicht die Rede sein, und der Blutzuckeranstieg ist somit als Folge einer spezifischen Reizwirkung des Kohlenoxyds aufzufassen.

2. In Anoxämieversuchen mit Stickstoffatmung bei Zusätzen von 4—10% Sauerstoff zeigten die Tiere nach 1 Stunde Aufenthalt in einer Atmosphäre von 8—10% Sauerstoff deutliche Zeichen von Anoxämie, aber keine Veränderung des Blutzuckerspiegels. Erst wenn der Sauerstoffgehalt bis an die Erstickungsgrenze (4—6%) vermindert wurde, trat auch hier ein erhebliches Ansteigen des Blutzuckers auf.

3. Aus den Ergebnissen dieser beiden Versuchsreihen wird der Schluß gezogen, daß der Blutzuckeranstieg bei der Kohlenoxydvergiftung nicht als Folge einer Anoxämie, sondern als eine spezifische Reizwirkung des Kohlenoxyds aufzufassen ist. Das Kohlenoxyd scheint somit im Organismus neben den anoxämischen auch spezifisch-toxische Wirkungen zu entfalten.

4. Durch eine der CO-Vergiftung vorausgehende Glykogenanreicherung (Glucoseverabreichung) ließ sich der Blutzuckeranstieg bei der CO-Vergiftung erheblich verstärken.

5. Die der CO-Vergiftung vorausgehende Injektion von Insulin vermochte — in Bestätigung zu der Beobachtung von Isimaru — den Blutzuckeranstieg zu verhindern.

6. Der nähere Mechanismus der Blutzuckersteigerung bei der CO-Vergiftung ist noch nicht geklärt. Im Zusammenhang mit den früheren klinischen Untersuchungen wird darauf hingewiesen, daß es sich hier wahrscheinlich um eine zentrale Reizwirkung auf gewisse Teile des Zwischenhirns handelt, was auch mit der diencephalen Lokalisation zahlreicher anderer nach CO-Vergiftungen auftretender Störungen in Übereinstimmung stehen würde.

7. Es wird auf die Bedeutung des Nachweises solcher spezifisch-toxischer Wirkungen des Kohlenoxyds für die umstrittene Frage der chronischen CO-Vergiftung hingewiesen.

Literatur.

Baader, E. W.: Arch. Gewerbepath. **7**, 227 (1936). — Barkan, G.: „Das Kohlenoxydhämoglobin u. das Problem d. CO-Verg." Handb. d. norm. u. Path. Physiol. **6**, I, S. 114—148. Berlin, Julius Springer, 1928. — Barkan, G.: Dtsch. med. Wschr. **1938**, I, 638. — Beck, H. G., W. H. Schulze u. G. M. Suter: J. amer. med. Assoc. **115**, 1 (1940). — Bock, J.: Haffters Handb. d. Pharmakol. **1**, 63 (1923). — Brewer, N. R.: Amer. J. Physiol. **120**, 91 (1937). — Christ, C.: Beitr. path. Anat. **94**, 111 (1934). — Cordier, D.: Ann. Physiol. **10**, 1135 (1934) (franz.). — Gréhant, N., zit. nach Barkan. — Haggard, H. W.: Amer. J. Physiol. **60**, 244 (1922). — Haggard, H. W., u. Y. Henderson: J. biol. Chem. **47**, 421 (1921). — Haldane, J.: J. physiol. (Brit.) **18**, 211 (1895), zit. nach Barkan. — Hartmann, E.: Erg. Physiol. **39**, 413 (1937). — Henderson, Y.: Münch. med. Wschr. **1935**, S. 1672. — Isimaru, Satomi: Mitt. med. Akad. Kyoto **23**, 335 u. 489 (1938). — Kampelmann, F., u. E. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 152 (1937). — Kayser, H. W.: Ebenda **192**, 625 (1939). — Lewin, L.: Die Kohlenoxydvergiftung. Berlin, Julius Springer. 1920. — Litzner, St.: Med. Klin. **1936**, I, 630. — Moeschlin, S.: Acta med. scand. (Schwed.) **102**, 140 (1939). — Mosso, A.: Arch. ital. Biol. (fr.) **35**, 21 (1901). — Pollak, L.: Erg. inn. Med. **23**, 237 (1923). — Raab, W.: Wien. klin. Wschr. **1934**. II. 1482. — Raploh, H.: Arch. Hyg. (D.) **120**, 244 (1938). — Schlayer, C.: Biochem. Z. **276**, 460 (1935). — Schmitt, F. O., u. M. G. Scott: Amer. J. Physiol. **107**, 85 (1935). — Schulze, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 649 (1936). — Schulze, E.: Klin. Wschr. **1937**, I, 427. — Schwarz, L., u. W. Deckert: Ebenda **1935**, I, 900. — Spatz, H.: Z. Neur. **77**, 376 (1922). — Starkenstein, J.: Lehrbuch der Toxikologie. Berlin, Urban u. Schwarzenberg, 1930. — Steinmann, B.: Z. Kreisl.forsch. **29**, 281 (1937). — Süpfle: Dtsch. med. Wschr. **1934**, S. 1263. — Thiel, K.: Z. exper. Med. **88**, 207, 233 u. 255 (1933). — Symanski, H.: „Neuere Erkenntnisse über die akute u. chron. CO-Verg." Arbeitsmedizin, H. 5. Leipzig, Verlag Ambr. Barth, 1936. — Tscherkess, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 161 (1928). — Voss, St.: Münch. med. Wschr. **1940**, I, 636. — Warburg, O.: Biochem. Z. **177**, 477 (1926). — Warburg, O.: Naturw. **15**, 546 (1927). — Warburg, O.: Biochem. Z. **189**, 371 (1927).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Tisza István Universität Debrecen.
(Direktor: Dr. A. v. Jeney, ord. öff. Prof.)

Die Wirkung der Kynurensäure auf die Zellatmung.

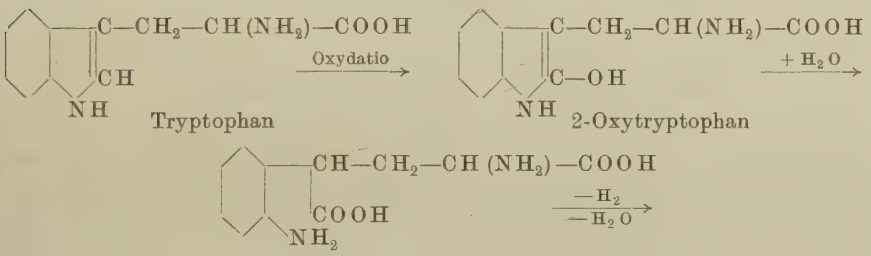
Von

A. v. Jeney und Martha Plessa.

(Eingegangen am 17. September 1941.)

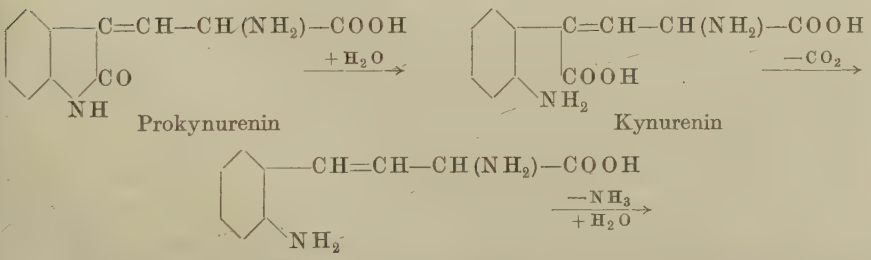
Der oxydative Tryptophanabbau findet nur zum Teil nach der ursprünglichen Vorstellung Ellingers (2, 3) über die B-C_4-Oxyphenol-brenztraubensäure statt. Der überwiegende Teil verwandelt sich nach Y. Kotake (6) unter oxydativen Veränderungen des Indolringes und der Seitenkette in Brenzkynurenin und Kynurenin (Formel I und II).

Formel I.



γ-(2-Aminophenyl)-Glutaminsäure

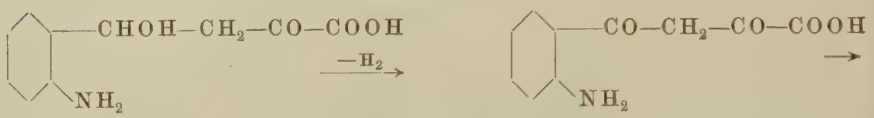
Formel II.



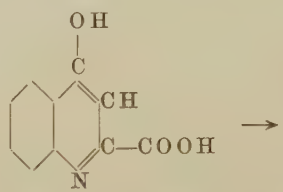
Diese Verwandlung des Tryptophans in Kynurenin läßt sich nachweisen, wenn das Tryptophan in der Anwesenheit von Sauerstoff bei 37° C Temperatur einem Leberextrakt zugesetzt wird. Nach Kotake, Masayama (2) entsteht unter diesen Umständen selbst dann Prokynurenin, wenn der Leberextrakt vorher aufgekocht wurde. Im Kaninchenorganismus geht der oxydative Tryptophanabbau noch weiter, bis zur Kynurensäure. Werden aber die Kaninchen ausschließlich mit Reis ernährt, so läßt sich dieser Vorgang soweit zurückdrängen, daß anstatt Kynurensäure Kynurenin in erhöhten Mengen abgesondert wird. Kynurenin kann im Blut und Urin auch ohne vorherige Tryptophanzufuhr nachgewiesen werden, und zwar bei Ileuserscheinungen infolge Darmverschlusses. In diesem Falle entsteht

die Verbindung aus dem eigenen Tryptophan des Körpers [Mitsuba, Suchira, Itagaki (10)]. Vor dem Entstehen der Kynurensäure wird während des oxydativen Abbaus des Kynurenin o-Aminobenzoyl-brenztraubensäure erzeugt. Die Reaktion geht nach Kotake und seinen Mitarbeitern wahrscheinlich in der nachstehenden Weise vor sich (Formel III).

Formel III.



o-Aminobenzoyl-Brenztraubensäure



Kynurensäure/4-Oxychinolin-2-Carbonsäure

Als ein Oxydationsendprodukt kommt die Kynurensäure im Urin des Hundes, des amerikanischen Prärie wolfes und anderer Fleischfresser regelmäßig vor. Der Hund scheidet Kynurensäure nicht nur mit dem Urin, sondern auch mit der Galle aus [Y. Kotake und N. Yto, 1937 (9), J. T. Corell, C. P. Berg und D. W. Cowan, 1938 (1)]. Der Stoff kann auch im menschlichen Urin in kleinen Mengen nachgewiesen werden. Im Kaninchenurin kommt er nur nach parenteraler Tryptophanzufuhr vor. Wird eine überlebende Leber mit einer Flüssigkeit durchgeströmt, die Kynurenin enthält, so kann in der Flüssigkeit Kynurensäure nachgewiesen werden. Im Blut und Urin von Hunden, deren Leber vorher entfernt wurde, kommt Kynurensäure nicht vor, selbst wenn die Tiere mit Tryptophan vorbehandelt wurden. Dagegen wird die Kynurensäureerzeugung aus Kynurenin durch Milzentfernung nicht gestört [Ichihara, Otani, Tsujimoto (5)]. Die subcutan verabreichte Kynurensäure wird weder vom Hunde noch vom Kaninchenorganismus verbrannt. Auf Grund dieser Ergebnisse kann angenommen werden, daß Kynurensäure — wenigstens in den erwähnten Lebewesen — ein Stoffwechselendprodukt darstellt. Diese Annahme veranlaßte uns zu den Versuchen, den Einfluß der Kynurensäure auf die Zellatmung zu prüfen.

Methodik.

Zur Untersuchung der Kynurensäurewirkung verwendeten wir in den allgemein bekannten Barcroft-Warburgschen Mikrorespirationsversuchen eine Leber- bzw. eine Milzsuspension.

Herstellung der Leber- und Milzsuspension. Vollentwickelte, 300—400 g schwere Ratten wurden mit einem Nackenschlag getötet, ihre Leber und Milz rasch entfernt, von den fremden Bestandteilen (Gallenblase,

Bindegewebe) sorgfältig gereinigt, mit einem eisgekühlten Latapie-Apparat zu Brei gemahlen. 20 g Leber wurden mit 20 ccm abgekühlter Krebs-Ringerlösung vermischt und die erhaltene Suspension wurde im Versuch sofort verwendet. Die Milzsuspension wurde aus 4 g Milzbrei und 8 ccm Krebs-Ringerlösung zubereitet. Je 1 ccm der in obiger Weise hergestellten Suspensionen wurden in den Warburgschen Apparat gelegt, mit 2 ccm Krebs-Ringerlösung und je 0,5 ccm 1 : 10000 verdünnter Kynurensäure bzw. 0,4%igem Natrium succinat versetzt. In den Kontrollversuchen verwendeten wir auch an Stelle der Kynurensäure 0,5 ccm Krebs-Ringerlösung. Jede Serie bestand aus drei Hauptversuchen und drei Kontrollversuchen. Die Warburgschen Gefäße wurden unter langsamem Bewegen in einem 37° C warmen Wasserbad 1 Stunde lang beobachtet. Die Ablesung des Manometerstandes erfolgte in den Lebersuspensionsversuchen 10-, in den Milzversuchen 15minütlich. Nachdem der Gehalt der Leber- bzw. Milzsuspensionen an Trockensubstanz, in den einzelnen Warburgschen Gefäßen durch Eindampfen und Aufbewahrung im Exsikkator bis zum konstanten Gewicht bestimmt wurde, berechneten wir die Ergebnisse auf 100 mg Leber- bzw. Milztrockensubstanz. Insgesamt je 30 Versuche wurden mit der Leber- und der Milzsuspension durchgeführt.

Versuche mit Lebersuspension.

Ein Versuchsprotokoll soll als Beispiel angeführt werden (Tabelle 1).

Tabelle 1. Versuchsprotokoll.

Zeit	Kontrollversuche: 2,5 ccm Krebs-Ringer, 0,5 „ Natr. succinat, 1,0 „ Lebersuspension			Zugabe von Kynurensäure: 2,0 ccm Krebs-Ringer, 0,5 „ Natr. succinat, 1,0 „ Lebersuspension, 0,5 „ Kynurensäure			Thermobarometer
10′	189 / 137	191 / 136	191 / 180	187 / 129	193 / 136	195 / 152	+ 2
20′	170 / 67	171 / 67	172 / 92	172 / 73	176 / 79	176 / 84	± 0
30′	166 / 43	166 / 41	166 / 55	166 / 43	170 / 52	173 / 65	− 3
40′	162 / 37	161 / 32	162 / 46	163 / 40	167 / 45	161 / 32	− 1
50′	159 / 30	158 / 25	159 / 38	160 / 33	163 / 39	160 / 32	± 0
60′	155	155	155	156	156	157	± 0
O_2 in cmm	331	317	332	328	369	388	
Trockensubstanz in mg	321,3	300,5	370,5	306,3	336,3	302,2	
O_2/100 mg Trockensubstanz	103	105	89,7	107	109	129	
	99,2			115			

Die Gesamtergebnisse sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2. Versuche mit Lebersuspension.

O_2-Verbrauch in cmm auf 100 mg Trockensubstanz gerechnet					
Kontrollversuche			Zugabe von Kynurensäure		
120,0	124,0	148,0	141,3	122,2	116,3
120,0	129,0	178,5	133,4	131,2	135,2
115,2	110,4	142,4	148,4	138,8	130,0
92,1	106,2	147,8	151,7	113,3	110,8
103,0	105,4	89,7	107,0	109,7	128,3
104,8	100,0	134,4	100,0	110,2	112,5
116,7	119,1	110,0	122,2	121,4	111,2
114,9	115,3	93,1	104,3	131,4	137,0
102,0	99,2	96,3	126,9	104,8	106,5
105,3	111,0	128,6	115,0	120,5	118,5
in Mittelwerten:					
	110,0			125,0	

Tabelle 3. Mittelwerte der Resultate von Versuchen mit Lebersuspension.

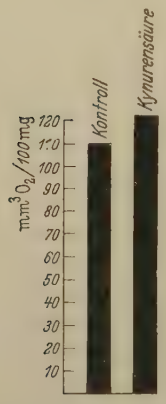


Tabelle 2 zeigt daß die Kynurensäure auf den Sauerstoffverbrauch des Lebergewebsbreies keinen bedeutenden Einfluß ausübt. Der Sauerstoffverbrauch betrug in den Kontrollversuchen durchschnittlich 110 cmm pro 100 mg Trockensubstanz, in der Anwesenheit von Kynurensäure aber 129 cmm, was lediglich einem Unterschied von 13,6% entspricht. Dieser Unterschied kann aber nicht als ein Beweis der Atmungssteigerung gelten, obwohl eine ähnliche Steigerung im Laufe der Versuche stets vorhanden war, wie es aus dem Säulendiagramm (Tabelle 3) hervorgeht.

Versuche mit der Milzsuspension.

Tabelle 4 stellt beispielsweise ein Versuchsprotokoll dar.

Tabelle 5 zeigt gleichfalls den durchschnittlichen, auf 100 mg Trockensubstanz bezogenen Sauerstoffverbrauch von je 30 Versuchen. Aus der Tabelle erhellt, daß der Sauerstoffverbrauch von 100 mg Milzsuspension in der Abwesenheit von Kynurensäure bloß 45 cmm betrug, während nach Hinzufügung der Kynurensäure ein Mittelwert von 74 cmm erzielt wurde, was einer Zunahme von 64,4% entspricht. Berücksichtigt man die Tatsache, daß bei den Warburgschen Versuchen mit einer Fehlerquelle von 10—15% zu rechnen ist, so ist die Zunahme noch immer beträchtlich.

Tabelle 4. Protokollversuche mit Milzsuspension.

Zeit	Kontrollversuche: 2,5 ccm Krebs-Ringer, 0,5 „ Natr. succinat, 1,0 „ Milzsuspension			Zugabe von Kynurensäure: 2,0 ccm Krebs-Ringer, 0,5 „ Natr. succinat, 0,5 „ Kynurensäure, 1,0 „ Milzsuspension			Thermobarometer
15′	161 30	161 27	155 10	167 48	170 57	164 40	— 2
30′	158 24	159 24	156 17	162 35	161 31	163 40	— 1
45′	157 20	158 21	156 17	160 29	159 25	160 30	— 1
60′	155 14	156 15	154 10	156 16	156 16	158 23	— 1
O_2 in cmm	88	87	54	128	129	133	
Trockensubstanz in mg	190,5	151,5	180,0	177,5	177,3	177,7	
O_2/100 mg Trockensubstanz	46,3	45,4	30,0	72,1	72,8	74,8	

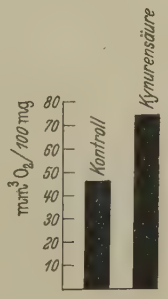
Die Gesamtergebnisse sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

Tabelle 5. Versuche mit Milzsuspension.

O_2-Verbrauch in cmm auf 100 mg Trockensubstanz gerechnet					
Kontrollversuche			Zugabe von Kynurensäure		
41,7	42,3	36,7	78,3	73,2	95,3
42,8	49,8	16,3	61,1	91,9	88,3
46,3	45,4	30,0	72,1	72,8	74,8
52,6	53,4	67,7	93,2	102,4	106,3
44,8	50,3	46,6	57,9	65,8	36,0
39,3	41,8	30,9	49,5	57,5	59,6
64,7	60,8	49,5	41,6	72,3	73,2
56,1	48,3	40,0	59,0	61,0	55,0
66,8	58,6	46,8	71,3	74,5	80,9
53,6	55,6	34,5	60,0	84,2	70,0
		in Mittelwerten:			
	45,0			74,0	

Dies zeigt sich auch aus der graphischen Darstellung der Ergebnisse an Tabelle 6.

Tabelle 6. Mittelwerte der Resultate von Versuchen mit Milzsuspension.



Im Endresultat läßt sich feststellen, daß

1. Kynurensäure den Sauerstoffverbrauch des Leberbreies nicht beeinflußt,
2. in der Atmung der Milzsuspension aber einen Anstieg von über 64% zustande bringt.

Zusammenfassung.

Besprechung des Tryptophanabbaus und der Entstehung der Kynurensäure. Atmungsversuche mit Leber- und Milzbrei mit der Barcroft-Warburgschen Methode unter Zugabe von Natr. succinat. Herstellung von Leber- und Milzbrei aus der Leber und Milz junger Ratten mit dem Mahlapparat von Latapie. Gesamtflüssigkeit: 4 ccm. Beobachtungszeit: 60 Minuten. 37° C Wasserbad. Ablesung: In den Versuchen mit Lebersuspension 10 minütlich, in den Milzversuchen viertelstündlich. Der Sauerstoffverbrauch wurde in cmm angegeben und auf 100 mg Trockensubstanz der Leber bzw. Milz bezogen. — Sauerstoffverbrauch des Leberbreies: ohne Kynurensäure 110 cmm pro 100 mg Trockensubstanz, mit 0,5 ccm 1 : 10000 Kynurensäure 129 cmm pro 100 mg Trockensubstanz, entsprechend einer Zunahme von 13,6%. Sauerstoffverbrauch des Milzbreies: ohne Kynurensäure 45 cmm pro 100 mg Trockensubstanz, mit Kynurensäure 74 cmm pro 100 mg Trockensubstanz, die Steigerung beträgt 64,4%. Demnach wird der Sauerstoffverbrauch des Leberbreies durch Kynurensäure nicht beeinflußt, dagegen erzeugt die Verbindung in der Atmung der Milzsuspension eine 64%ige Zunahme (berechnet aus je 30 Versuchen).

Literatur.

1) Corell, J. T., C. P. Berg u. D. W. Cowan: J. biol. Chem. (Am.) **123**, 151 (1938). — 2) Ellinger, A.: Z. physiol. Chem. **109**, 259 (1920). — 3) Ellinger, A., u. Matsuoka: Ebenda **109**, 259 (1920). — 4) Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Basel, New-York, Verlag von C. Karger, 1940. — 5) Ichihara, Otani u. Tsujimoto: Z. physiol. Chem. **195**, 179 (1931). — 6) Kotake, Y.: Ebenda, S. 139. — 7) Kotake, Y., u. K. Ichihara: Ebenda, S. 171. — 8) Kotake, Y., u. T. Masayama: Ebenda **243**, 237 (1936). — 9) Kotakę, Y., N. Yto: J. Biochem. (Japan) **26**, 161 (1937). — 10) Mitsuba, Suchira u. Itagaki: Klin. Wschr. I, S. 284 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Tisza István Universität Debrecen.
(Direktor: Dr. A. v. Jeney, ord. öff. Prof.)

Die Wirkung der Polypeptide auf die Gewebsatmung.

Von

A. v. Jeney, T. v. Vályi-Nagy, J. Magyari und **I. Mihalik.**

(Eingegangen am 17. September 1941.)

Zahlreiche Verfasser haben sich mit dem Polypeptidgehalt des Blutes befaßt. Eine physiologische Vermehrung der Blutpolypeptide kommt während der Schwangerschaft und des Wochenbettes zustande (Schlossmann, 1925, Sannicrando, 1933). Bei Schwangerschaftstoxikosen ist diese Vermehrung noch beträchtlicher. Eine bedeutende Hyperpolypeptidämie findet man bei Leber- und Nierenkrankheiten, ferner bei den krankhaften Zuständen, die mit erhöhtem Eiweißabbau einhergehen, wie z. B. Coma diabeticum, Leukämie, Eiterungen, Brustkorb- und Bauchhöhlenexsudat, Quetschwunden, Verbrennungen und Abbrühungen, Zustände nach größeren Operationen, erhöhter Blutkörperchenzerfall, Röntgenbestrahlung, Geschwulstzerfall, akuter Darmverschluß usw. [Lambret, Drisseus (1930), C. Manzini (1934), M. J. Polonowski, Drisseus (1934), P. Duval, Roux und Griffon (1934), Jeney und Sokoray (1936), E. G. Godfried (1939)].

Es wurde durch zahlreiche Beobachtungen und Versuche bestätigt, daß die Eiweißabbauprodukte, insbesondere einzelne Aminosäuren, auf die Stoffwechselvorgänge fördernd wirken. Hingegen wurde die Wirkung von hinreichend gereinigten Polypeptidpräparaten auf die Gewebsatmung unseres Wissens bisher nicht untersucht. Die vorliegende Arbeit trachtet dieses Problem zu lösen. Vor allem mußte daher für ein einwandfrei gereinigtes Polypeptidpräparat gesorgt werden.

Herstellung von Polypeptid aus Schweineleber (nach van Slyke).

5 kg Schweineleber werden nach sorgfältiger Ablösung der Gallenblase und vollkommener Reinigung von Bindegewebselementen mit einem Fleischmahler gemahlen und mit Quarzsand verrieben. Der Brei wird durch ein feines Metallsieb gepreßt und nachher mit dem gleichen Gewicht von 0,25%iger Kochsalzlösung vermengt. Die Suspension haben wir bei Zimmertemperatur 5 Stunden lang stehengelassen, inzwischen wiederholt umgeschüttelt. Die Menge der Suspension war ungefähr 6 Liter. Nun haben wir 350 g Trichloressigsäure in 500 ccm Wasser gelöst und die Lösung 50—60-ccm-weise der Lebersuspension hinzugefügt. Nach Abzentrifugieren des ausgeschiedenen Eiweißes wurde im weiteren die klare Flüssigkeit verwendet.

„K"-Fraktion. Das Trichloressigsäurefiltrat der Leber wurde bei 29—32° C im Vakuum auf 850 ccm eingedampft und der nachträglich entstandene Niederschlag durch Filtration entfernt. Der klaren Lösung wurde eine Probe entnommen und mit Sulfosalicylsäure und Trichloressigsäure auf Eiweißstoffe untersucht. Nun versetzten wir die Flüssigkeit mit je 18 ccm konzentrierter Salzsäure pro 100 ccm. Die mit Salzsäure versetzte Flüssigkeit wurde 24 Stunden im Eisschrank stehengelassen und der während dieser Zeit ausgeschiedene kristallische Niederschlag („K"-Fraktion) durch Zentrifugieren getrennt.

Nach Entfernung der erwähnten Fraktion haben wir dem Filtrat 15 g Phosphorwolframsäure (PWS.) pro 100 ccm hinzugefügt und 24 Stunden im Eisschrank gehalten. Der jetzt entstandene Niederschlag wurde auf dem Filter gesammelt, mit 3,5 % Salzsäure enthaltender 2,5 %iger PWS von 0° C Temperatur gewaschen, der PWS-Niederschlag in 1,5 Liter Wasser suspendiert, mit 150 ccm konzentrierter Salzsäure und etwa 500 cmm eines Äther-Amylalkoholgemisches (1 : 1) versetzt und die ganze Mischung in einem Schütteltrichter 5—10 Minuten lang gründlich geschüttelt. Nach Trennung der Schichten haben wir die untere wässerige Schicht abgesondert, die nächstfolgende, an der Grenze der wässerigen und der Äther-Amylalkoholschicht befindliche Niederschlagsschicht, welche die sogenannten Huminstoffe enthält, mehrmals mit Wasser gewaschen und die wässerigen Fraktionen der oben erwähnten hinzugegeben. Die gesammelten wässerigen Fraktionen wurden zwecks vollständiger Entfernung der PWS mit dem Äther-Amylalkoholgemisch wiederholt ausgeschüttelt. Um die Salzsäure vollständig zu entfernen, wurde die wässerige Fraktion in einem Schüttelapparat mit Silberoxyd tüchtig geschüttelt und filtriert und das Verfahren wurde solange wiederholt, bis die Reaktion der Lösung gegenüber Kongopapier sich neutral verhielt. Diese Lösung wurde im Vakuum bei 30—32° C auf ein Fünftel ihres Volumens eingedampft. Als die Flüssigkeit schon ziemlich dickfließend war, haben wir sie in einen an analytischer Waage genau abgewogenen kleineren Kolben abgefüllt und die Eindampfung im Kolben solange fortgesetzt, bis die Flüssigkeit vollkommen dick wurde. Schließlich haben wir das Präparat zwecks Entfernung der Spuren von Wasser einige Tage lang in einem $CaCl_2$ und P_2O_5 enthaltenden Exsikkator unter Vakuum gehalten, damit ein vollkommen trockenes Präparat gewonnen wird.

Aus diesem Trockenpräparat haben wir eine 0,1 %ige Lösung hergestellt, in Ampullen gefüllt und tindalisiert (auf drei nacheinanderfolgenden Tagen haben wir die Lösung 30 Minuten lang bei 58° C gehalten, für die Nacht zwischen dem zweiten und dritten Tag in einem Brutschrank von 37° C Temperatur gelegt).

Das in obiger Weise gewonnene Präparat enthielt kein Eiweiß, es gab aber eine positive Biuret- und Aminosäurereaktion.

Herstellung von Lebergewebsbrei. Vollentwickelte, 300—400 g wiegende, junge weiße Ratten werden durch Nackenschlag getötet, ihre Leber rasch herausgenommen und nach sorgfältiger Entfernung der Gallenblase und Reinigung von Bindegewebselementen mittels eines vorher eisgekühlten Mahlapparates nach Latapie zu einem feinen Brei gemahlen. Der Brei wurde in einem kleinen, vorher abgewogenen Kochglas aufgefangen. Je 20 g Brei wurden mit je 20 ccm abgekühlter Krebs-Ringerlösung vermengt. Die so gewonnene Suspension wurde sofort verwendet.

Gewebsatmungsversuche nach Barcroft-Warburg.

Die Versuche wurden mit dem Barcroft-Warburgschen Apparat unter Anwendung von 4,00 ccm Gesamtflüssigkeitsmenge ausgeführt. Diese Flüssigkeitsmenge bestand aus 1 ccm Lebersuspension, 2 ccm Krebs-Ringerlösung und je 0,5 ccm Natr. succinat und 0,1%iger Polypeptidlösung. In den Kontrollversuchen enthielten drei von sechs Gefäßen je 2,5 ccm Krebs-Ringerlösung, um die fehlende Polypeptidmenge (0,5 ccm) zu ersetzen. Nach Eintauchen der Warburgschen Gefäße in ein 37° C warmes Wasserbad haben wir sie langsam hin und her geschwenkt und den Manometerstand 1 Stunde hindurch 10minütlich aufgezeichnet. Am Ende des Versuchs wurde der Gehalt der einzelnen Warburgschen Gefäße

Tabelle 1. Protokoll eines Versuchs.

Zeit	Kontrollversuche 0,5 ccm Natr. succinat 2,5 „ Krebs-Ringer 1,0 „ Lebersuspension			Nach Zugabe von Polypeptiden 0,5 ccm Natr. succinat 2,0 „ Krebs-Ringer 1,0 „ Lebersuspension 0,5 „ Polypeptidlösung			Thermobarometer
10′	178	188	186	176	186	182	+ 1
	98	118	122	76	116	110	
20′	168	166	164	169	173	171	0
	63	48	46	61	72	70	
30′	164	163	163	170	170	170	0
	47	39	43	64	63	66	
40′	160	158	156	160	161	161	− 1
	30	21	16	28	31	33	
50′	159	157	156	159	159	161	0
	30	21	19	28	28	36	
60′	155	155	153	156	156	157	0
	16	15	9	19	19	23	
O_2 in cmm	284	262	255	276	329	338	
Trockensubstanz in mg	0,2176	0,2903	0,2784	0,2686	0,2762	0,2871	
O_2/100 mg Trockensubstanz	131,4	90,2	90,2	102,9	119,1	118,1	

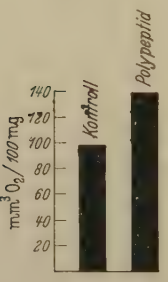
über einem Wasserbad eingedampft, bis zum konstanten Gewicht im Exsikkator gehalten, die Menge der in den einzelnen Gefäßen enthaltenen Trockensubstanz bestimmt und aus diesem Wert das Gewicht der Krebs-Ringersalze (0,1268 g) abgezogen. Der Sauerstoffverbrauch wurde in cmm pro 100 mg Trockensubstanz berechnet.

Als Beispiel soll eine den Gang eines Versuchs darstellende Tabelle mitgeteilt werden (Tabelle 1). Aus der alle Versuche zusammenfassenden Tabelle 2 ist ersichtlich, daß nach den Orientierungsversuchen in der

Tabelle 2. Gewebsatmung von Lebersuspension.

O_2-Verbrauch in cmm auf 100 mg Trockensubstanz gerechnet					
Kontrollversuche			Nach Zugabe von Polypeptiden		
105,8	120,6	114,8	152,5	149,5	204,3
100,4	90,2	90,2	102,9	119,1	118,1
117,3	110,6	110,3	155,5	147,5	160,9
103,7	103,4	110,3	155,7	142,4	147,2
110,7	105,8	107,6	121,0	120,0	131,9
114,2	116,5	97,6	139,7	143,5	134,5
99,6	108,3	92,8	126,7	127,5	129,3
74,0	96,5	83,2	113,6	102,6	104,0
74,2	84,4	80,5	103,5	102,9	123,4
103,7	110,6	108,2	155,7	147,5	147,2
in Mittelwerten:					
	96,7			139,0	

Tabelle 3. Mittelwerte des Oxygenverbrauchs der Lebersuspension in cmm pro 100 mg Trockensubstanz mit und ohne den Einfluß von Leberpolypeptiden.



Hauptversuchsserie insgesamt 30 Versuche zur Untersuchung der Wirkung unseres Polypeptidpräparates angestellt wurden, wobei die Zahl der Kontrollversuche ebenfalls 30 war. Nach Berechnung des Mittelwertes wurde gefunden, daß in den Kontrollversuchen 96,7 cmm Sauerstoff pro Stunde und 100 mg Trockensubstanz verbraucht wurden, während der Verbrauch unter der Polypeptidwirkung 130 cmm betrug. Dies bedeutet, daß unter der Einwirkung der aus Schweineleber herstellbaren Polypeptide die Zellatmung der Rattenleber um rund 43% ansteigt. Der Unterschied wird durch das an Tabelle 3 abgebildete Säulendiagramm eindrucksvoll dargestellt.

Zusammenfassung.

1. Herstellung eines Polypeptidpräparates aus Schweineleber nach van Slyke.

2. Anfertigung von Lebergewebsbrei aus der Leber junger Ratten mittels des Apparates von Latapie.

3. Lebergewebsatmungsversuche mit der Methodik von Barcroft-Warburg.

Gesamtflüssigkeit: 4 ccm, nach Zugabe von Natr. succinat. Beobachtungszeit: 60 Minuten. Wasserbad von 37° C Temperatur. Ablesung 10minütlich. Sauerstoffverbrauch pro 100 mg Trockensubstanz im Mittelwert von 30 Kontrollversuchen: 96,7 cmm, unter Polypeptidwirkung 139 cmm, gleichfalls im Mittelwert von 30 Versuchen. Anstieg: 43%.

Literatur.

1) Duval, P., Roux u. Griffon: Presse méd. **1934**, S. 1785. — 2) Godfried, E. G.: Biochem. J. **33**, 955 (1939). — 3) Jeney, A. v., u. L. Sokoray: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 560 (1936). — 4) Lambret, Drisseus: C. r. Soc. Biol. Paris **104**, 567 (1930). — 5) Manzini, C.: Policlinico Sez. med. **41**, 121 (1934). — 6) Polonowski, M. J., Drisseus: C. r. Soc. Biol. Paris **115**, 1427 (1934). — 7) Sannicrando, G.: Fisiol. e. Med. **4**, 501 (1933). — 8) Schlossmann, H.: Z. exper. Med. **47**, 487 (1925).

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. Eichler.)

Versuche, um Gesetzmäßigkeiten in der Verteilung und Empfindlichkeit im Zusammenhang mit Veränderungen der extracellulären Räume bei mit Na J behandelten Fröschen aufzufinden*.

Von

Oskar Eichler.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. September 1941.)

Das hier zugrunde liegende Problem der Konstitution ist weitgespannt und wird mit Erfolg auf verschiedenen Wegen angegangen. Die größere oder geringere Empfindlichkeit des einzelnen gegen Gifte ist ein Ausdruck der Konstitution. Am kranken Menschen der Klinik schälen sich z. B. bei Gebrauch von Medikamenten Kontraindikationen heraus. Diese werden wir kaum zu der Konstitution rechnen dürfen, sondern vorläufig auf die sich begünstigende Wirkung zweier Noxen zurückführen. Die Gründe dieses Synergismus sind in den seltensten Fällen bekannt.

Vielfach wird mit einer umfassenden Handbewegung — ähnlich manchen Strategen auf der Karte — das Wort „innere Sekretion" in die Diskussion hineingeworfen, ohne daß eine Verpflichtung zu einer spezifizierten Begründung für notwendig gehalten wird. Gewiß ist, daß in der Analyse der Medikamentenwirkung die Möglichkeit des primären Angriffs an irgendeiner Drüse mit innerer Sekretion vorläufig noch viel zu sehr im Hintergrund steht, ja, daß mit der Bearbeitung dieses Themas (abgesehen von der Adrenalinausschüttung) kaum begonnen worden ist. Trotzdem sei uns gestattet, ohne diese Stützpfeiler gegenseitiger Korrelationen und Erhaltung der Einheit zu berücksichtigen, unseren Weg zu gehen.

Eine Berechtigung ergibt sich dazu in der Tatsache, daß zu ausgleichendem Eingriff der Drüsen meist längere Zeiträume notwendig sind, die bei einmaliger akuter Giftwirkung meist nicht zur Verfügung stehen. Andererseits verläuft die Vergiftung mit Jodid langsam genug — d. h. hier bis zu 1 Tage —, daß das Eintreten z. B. von rasch sezerniertem und kurzwirkendem Adrenalin nur wenig zur Geltung kommen dürfte, jedenfalls nach grober Abschätzung. Aber wesentlicher ist die Tatsache, daß beim

* Die Versuche wurden im Winter 1931/32 ausgeführt und durch eine Beihilfe der damaligen Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ermöglicht.

Frosch die Vergiftungssymptome von Jodid und anderen Anionen der Hofmeisterschen Reihe sich in erster Linie an der Muskulatur (vielleicht noch an den zugehörigen Neuronen) bemerkbar machen. Wenn ein Versagen des Herzens und Kreislaufes einsetzt, dann geschieht das nicht durch die im Blute vorkommende Konzentration selbst, sondern auf dem Umwege über Stoffwechseländerungen in längerer Zeit. Diese werden aber nicht so sehr das Herz betreffen, da vielfältige Versuche [1] immer wieder zeigten, daß schon schwere Störungen der Muskulatur (Starre usw.) sichtbar waren, während das Herz sogar noch tagelang fortschlagen konnte. Dadurch waren wir imstande, die zwei Faktoren — Giftwirkung und Entgiftung — mit zwei Organen zu identifizieren, nämlich Muskulatur und Niere. Hier fand sich nun noch ein merkwürdiger Zusammenhang, als eine Reihe von Kollektiven einer Analyse unterworfen wurde. Es wurde abgeleitet, daß Frösche, die an der Muskulatur wenig empfindlich waren, sich zugleich durch ein gutes Ausscheidungsvermögen der Niere auszeichneten, und umgekehrt schieden die Frösche schlecht aus, deren Muskeln hohe Empfindlichkeit zeigten.

Zur Erklärung dieser Zusammenhänge wurde zuerst eine naheliegende Vorstellung verwendet, um das wissenschaftliche Bedürfnis der Rückführung auf eine Ursache zu befriedigen. Diese Vorstellung basiert auf der vielfältigen Beobachtung der Ähnlichkeit der Grundstrukturen durch die gesamte belebte Welt, d. h. wir finden dieselben Bausteine, dieselben Fermente usw. in Bakterien und höheren Tieren. Ein kleiner Schritt weiter ist die Annahme, daß in demselben Organismus auf bestimmten allgemeinen Grundelementen die spezielle Leistung des Organs sich aufbaut. Durch ein Beispiel wollen wir deutlicher werden: Die Energietransformationen (Oxydation, Dehydratation, Milchsäurebildung u. a.) sind in den Zellen identisch, wirken sich aber verschieden in der speziellen Organleistung aus, also im Muskel in mechanischer, in der Niere in Konzentrationsarbeit. Wenn eine Substanz an diesen Grundelementen angreift, werden bestimmte Korrelationen der Beeinflussung verschiedener Organe auftreten und sich im Kollektiv bemerkbar machen, gerade Dank der Verschiedenheit der Anlage der Individuen, während sie beim Einzelindividuum einfach der Beobachtung entgehen müssen, also die Statistik an sich dient hier als weiterreichende Methodik. Daß auf diesem absolut neuen Gebiet die Reflexion eine Rolle spielen muß, ist selbstverständlich. Auch das Denken ist absolut ein Probieren [Angleichung der Gedanken an die Erfahrung (Mach)]. Schlüsse dieser Art wurden auch bei verschiedenen narkotischen Substanzen versucht[4].

Mit den eben entwickelten Vorstellungen hat es aber seine Schwierigkeiten, denn man kommt rasch an die Grenzen der heute möglichen

[1] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **154**, 59 (1930). — [2] Eichler, O.: Ebenda **175**, 67 (1934). — [3] Eichler, O.: Ebenda **184**, 82 (1936). — [4] Eichler, O., u. A. Smiatek: Ebenda **186**, 702 (1937).

Erkenntnis, und sie sind um so mehr isoliert und daher verurteilt, ohne weitere Wirkung zu bleiben, als nur eine von vielen vorgetragene Arbeit geeignet ist, eine breitere Basis zu schaffen, die einer späteren Zeit als Grundlage auch für die Plasmastrukturen dienen kann.

Wenn wir nun vom allgemeinen zu unserem speziellen Thema zurückkehren, dann ergibt sich hier ein weiterer Angriffspunkt für Experiment und Überlegung in der Tatsache, daß das Jodid zwar auf die Muskulatur einwirkt, aber als Anion nicht in sie einzudringen vermag, sondern seine Wirkung auf die Zelle von der Grenze her ausüben muß.

Die Impermeabilität der Muskelzellen für Cl′, Br′ und SCN′ wurde von Mond und Netter[5a, 5b] durch Ausspülungsversuche festgestellt. Diese Befunde wurden vielfach wiederholt und haben jetzt Anwendung gefunden zur Feststellung der Chlorid-, d. h. extracellulären Räume. Wir haben diese Versuche mit Jodid mit demselben Resultat wiederholt. Wir halten es für ausreichend, ohne weitere Belege nur auf das Resultat hinzuweisen. Die dem Chlorid gleiche Verteilung vieler Anionen wurde vielfach bewiesen. Deshalb ist unser Vorgehen ausreichend fundiert.

Durch Analyse des Gehaltes an Jodid in der Muskulatur war daher auch Aufschluß zu erhalten über das Verhalten der zwischen den Muskelfasern vorhandenen Räume, die dem Ultrafiltrat des Blutplasmas direkt zugänglich sind. Diese hängen aber zusammen

1. mit der Funktion der Muskelfasern, indem eine Steigerung des Tonus die interstitiellen Räume verkleinert;
2. mit dem Stoffwechsel innerhalb der Muskelfasern, wie folgende Darstellung lehrt (nach A. V. Hill[5]).

Wenn der Muskel in Ruhe ist, befindet sich das Zellinnere der Faser im osmotischen Gleichgewicht mit der Umgebung, da das Wasser am leichtesten beweglich ist. Wird der Muskel innerviert, dann entstehen in der Zelle Stoffwechselprodukte, die den osmotischen Druck innen vermehren. Da Wasser sich am raschesten bewegt, muß notwendig bis zum Gleichgewicht Flüssigkeit in die Muskelfaser eintreten, ihre Grenzen verschieben sich wie ein Osmometer über den Raum, und unter der Voraussetzung, daß das Gesamtvolumen des Muskels durch die Fascie etwa konstant gehalten wird, muß durch die Quellung oder exakter durch die Schwellung der Fasern der interstitielle Raum abnehmen. Diese Bewegung verdrängt also Jodid aus dem Gewebe, erhöht seine Konzentration im Plasma und vermag so die Ausscheidung zu begünstigen.

Nun wissen wir, daß während der Bewegung der Muskelfasern im Verbande des Organismus die extracelluläre Phase zunimmt. Wir haben bisher in unserem Gedankenexperiment nur ein Zeitdifferential betrachtet. Die stark osmotisch wirksamen Substanzen (z. B. Milchsäure) vermögen

[5] Hill, A. V.: Adventures in Biophysics, Oxford 1931. Daselbst Literatur. — [5a] Mond, R., u. K. Amson: Pflügers Arch. **220**, 69 (1928). — [5b] Mond, R., u. H. Netter: Ebenda **230**, 42 (1932).

jedoch sehr leicht den Muskel zu verlassen, außerdem geht K· verloren (nebenbei ist die Frage des Tonus zu beachten). Aber wir sind nicht unbedingt zu der Annahme gezwungen, daß die entstehenden Substanzen so stark diffusibel sind. Wir haben z. B. einen großen Verlust von Glykogen unter Jodidwirkung gefunden (s. auch [3]). Wenn dieses in schwer diffusiblen Traubenzucker und nicht weiter gespalten würde — wir haben derartige Versuche nicht ausgeführt —, würde eine 25%ige Traubenzuckerlösung entstehen, da Glykogen nur das Dreifache seines Gewichtes an Wasser speichert, wodurch der erwartete Effekt etwa eintreten könnte. Also die theoretischen Vorbedingungen sind denkbar. Wenn solche Vorgänge verliefen, ergäbe sich die Konsequenz, daß von diesem Punkte aus der gesamte beobachtete Effekt erklärbar wäre. Andeutungen in dieser Richtung finden sich in einigen orientierenden Versuchen.

Wurde Fröschen 10,72 mMol NaJ/kg in 2 molarer Lösung in den Brustlymphgang injiziert (siehe Eichler [2]), diese nach bestimmten Zeiten getötet und der Gehalt an Jodid im Muskel und Blut verglichen, dann zeigte sich zwischen beiden eine negative Korrelation, d. h. wenn die Konzentration in dem Blute hoch war, blieb sie in dem Muskel niedrig und umgekehrt. Diese Beziehung ist anscheinend plausibel, denn wenn die Organe mehr J′ aufnehmen, muß weniger im Blute sein. Damit aber würde auch weniger Jodid ausgeschieden, da eine Ausscheidung in der Niere mit der Konzentration im Plasma steigen muß. Da nun die Gewebe für Anionen nicht zugänglich sind, ist der extracelluläre Raum abhängig vom Stoffwechsel der Zellen, und zwar in welcher Richtung und in welchem Ausmaße er von dem anwesenden Jodion beeinflußt wird. Durch Schwellung der Zelle würde dann auch die Oberflächenbesetzung der Zelle mit J′ vermindert werden und damit wäre die Möglichkeit gegeben, den ganzen Vorgang der Korrelation zwischen Ausscheidung und Giftwirkung von einem Punkte aus zu begreifen, ein außerordentlich befriedigender Endeffekt. Um diesen Problemen näherzukommen, wurden die Versuche unternommen.

Anlage der Versuche.

Männliche Temporarien erhielten NaJ in 2,143 molarer Lösung in den Bauchlymphsack. Danach wurden sie für eine bestimmte Zeit in die feuchte Kammer gesetzt, d. h. in ein Glas, in dem die Seitenwände durch mit Ringerlösung getränktes Filterpapier bekleidet waren. Die obere Öffnung war verschlossen durch eine dickere Lage von feuchtem Zellstoff. Es sollte auf jeden Fall vermieden werden, daß die Froschhaut aus einem feuchten Untergrund Flüssigkeit nach innen befördert. Auf diese Weise würde die Ausscheidung von Jodid begünstigt und vor allem auch durch einen neuen Faktor kompliziert werden. Der Frosch sollte mit den schon mitgegebenen Reserven an Wasser und Salzen auszukommen suchen. Die Temperatur hielt sich auf 18 21° und wurde mit dem Maximumthermometer kontrolliert. Am Ende des Versuchs wurden die Frösche getötet und die Analysen des Blutes sofort nach der Methode von Kendall [6] ausgeführt. Diese Methode

[6] Kendall: J. biol. Chem. (Am.) **20**, 501 (1915).

hat sich derweil in Tausenden von Analysen in der bestimmten Größenordnung von Jodid (d. h. für mehr als 100, besser 200—400 γ J′ in der Analyse) bewährt (s. auch [3]).

Außerdem wurden von den Fröschen die beiden Mm. Gastrocnemii und die Lebern entnommen.

Die Mm. Gastrocnemii wurden für einige Sekunden in Ringerlösung getaucht und sofort auf Filterpapier getrocknet. Es sollte auf jeden Fall vermieden werden, daß etwa unbestimmte Mengen der hoch konzentrierten Lymphe an der Außenseite haften blieben und damit das Resultat erheblich fälschten. Die Fascie und das Bindegewebe selbst enthielten immer höhere Werte, wie folgende Versuche zeigen:

Nachdem Frösche 0,01 ccm/g Körpergewicht der 2,143 molaren Na J-Lösung erhalten hatten (= 21,43 mMol/kg), wurde bestimmte Zeit abgewartet. Die Muskeln wurden dann präpariert und nach Shakell [7] verarbeitet, d. h. sie wurden in CO_2-Äthermischung bei — 84° gefroren und sofort in einem Vakuum von 0,01 mm Hg über konz. Schwefelsäure getrocknet. Durch die Höhe des Vakuums findet die Verdunstung so rasch statt, daß die gefrorenen Organe nicht auftauen, sondern durch Sublimation des Wassers direkt getrocknet werden. Dadurch wird vermieden, daß die Oberfläche eintrocknet, d. h. dem Muskel bleibt sein volles Volumen erhalten. Er ist schwammig. Wird der Muskel in diesem Zustand im Mörser zerrieben, dann liefert er ein hygroskopisches Pulver. Beim Zerreiben zerfällt die Muskelfaser sehr rasch in Staub, während Fascie, Sehne und Bindegewebe Widerstand leisten. Man kann so die Fascie sehr gut isolieren. (Die Achillessehne wurde bei unseren Analysen niemals verwendet, sondern sofort entfernt.) So gelang es uns, Analysen der Fascie zu gewinnen. M. Behrens hat dieses Trockenverfahren auf anderem Wege (Windsichtung, Sedimentation usw.) zur Isolierung von mancherlei Gewebsbestandteilen (Zellkerne, Schilddrüsenkolloid) benutzt. Wir hatten die Möglichkeit, die Fascie auf J′-Gehalt zu analysieren, die beim Frosch wegen ihrer Feinheit sonst nur mit größter Schwierigkeit zu erhalten ist. Da man zu gleicher Zeit den Wassergehalt der Gewebe bestimmt, wurde hier auf den Feuchtgehalt berechnet. Dieses Verfahren ist nicht ganz exakt, da möglicherweise der Wassergehalt der Fascie etwas anders liegt. Für die Interspatialräume im Gastrocnemius des Kaninchens ist das auch durch Manery, Danielson und Hastings [8] bewiesen, die aus Kollagenbestimmungen nur 3,2% des Gewichtes an fester Substanz fanden. Das gilt für die Fascie nicht, die im Wassergehalt mehr der Sehne gleicht. Von unseren Analysen geben wir drei Beispiele an (Werte in mMol).

Zahl der Tiere	1	1	6 (Durchschnitt)
Zeit nach Gabe, Stunden	1	4	3
Gastrocnemius	5,56	5,59	6,10
Fascie	15,15	14,5	16,6

Deutlich ist die etwa dreifach höhere Konzentration in der Fascie. Diese Werte wollten wir durch unsere Abspülung nicht erniedrigen, denn dadurch wäre ein unübersichtlicher Faktor hineingetragen worden. Dazu war auch die Zeit in jedem Falle zu kurz. Der Blutgehalt wurde in den Muskeln durch Zerkleinerung und Extraktion mit Aqua dest. bestimmt. Die erhaltene Lösung wurde gegen Blut aus dem Herzen kolorimetriert. Der Gehalt des Muskels an Blut betrug so weniger als 0,5% des Gewichtes, meist weniger als 0,3%.

[7] Shakell: Amer. J. Physiol. **24**, 325 (1909). — [8] Manery, J. F., J. S. Danielson u. A. B. Hastings: J. biol. Chem. (Am.) **124**, 359 (1938).

Bei der Leber sind diese Verhältnisse viel schwieriger, da der Blutgehalt höher ist. Er wurde durch kurze Spülung und gründliches Auspressen über Filterpapier zu vermindern gesucht. Eine Gehaltsbestimmung war hier kaum möglich, weil die Leber andere Pigmente an die Extraktionsflüssigkeit abgibt. Man kann vielleicht schätzen, daß der Gehalt weniger als 2% betrug. Diese Werte gehen in die Berechnung der interstitiellen Räume ein.

Von allen Werten wurden Doppelbestimmungen ausgeführt, an deren Exaktheit hohe Anforderungen gestellt wurden (~ 1 Tropfen n/200 Thiosulfat). Alle anderen Versuche wurden verworfen. Die Doppelbestimmungen in der Muskulatur und Leber erfolgten nach Auflösen des Gewebes in Lauge und Entnahme des aliquoten Teiles.

Die Versuche wurden zur Orientierung mit Injektionen von 10,73 mMol Na J/kg begonnen (November), wie auch schon in früheren Versuchen. Hierüber liegen 18 Versuche vor, die Analysen von Niere und Haut neben Muskel und Leber aufweisen. Diese Dosis ist etwa die Hälfte der früher gefundenen[1] mittleren tödlichen Dosis (23,8 mMol).

Bei den Hauptversuchen (Januar—Anfang Februar 1932) wurden aber 21,43 mMol gegeben, um die Frösche zum vollen Einsatz ihrer Abwehrmethoden zu zwingen. Dabei konnte der Beginn der Vergiftungssymptome beobachtet und so eine Beziehung zu den Analysenwerten gesucht werden.

Die Frösche wurden $^1/_2$, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20 und 24 Stunden nach der Injektion getötet und analysiert. Die Zahl der Frösche betrug für jeden Zeitraum 10—13, insgesamt 121 Versuche, die zu über 720 Analysen führten. Dazu kommen noch einige Tiere, die zu der abgelaufenen Zeit schon moribund oder tot waren. Diese wurden zwar analysiert, aber allgemein rechnerisch nicht verwertet.

Bei der hier angewandten Dosis waren in den Versuchen des Jahres 1929/30[1] in den ersten 24 Stunden etwa drei Frösche tot gefunden worden, das sind rund 10% von der Gruppe von 30 Tieren. Wir haben jetzt nur zwei Tiere tot gefunden, ohne daß wir mit Sicherheit auf eine geringere Empfindlichkeit schließen könnten, da rund 50 Tiere schon getötet waren zu einer Zeit, wo damals[1] noch keine Todesfälle aufgetreten waren. Bis zu 16 Stunden war 1930 1 Tier von 30 gestorben, hier überlebten auch über 30 Tiere diese Zeit und die Zahl der Toten war also nicht so different, daß man auf eine verschiedene Empfindlichkeit schließen könnte. Wohl aber ist die Zahl der Tiere, die Rückenlage vertrugen, damals sehr viel größer gewesen, so daß eine etwas geringere Empfindlichkeit der Frösche des Jahres 1930 resultieren würde. Dabei waren das Tiermaterial (nur männliche Temporarien), der Fangort (Rheinniederung bei Kehl) und Versuchszeit (Januar) in beiden Jahren identisch. Ob das an Regen arme Jahr 1929 eine Bedeutung hat, soll nur erwähnt werden.

Man wird die Zahl der Versuchstiere mit 10—13 in jeder Gruppe als zu gering ansehen müssen, um solche statistische Funktionen wie Streuung oder gar den

Korrelationskoeffizienten wirklich benutzen zu können. Dieser Einwand gilt sicher, wird aber dann entkräftet werden können, wenn in der Zeit ein Ablauf deutlich wird, so daß also zwei, drei oder mehr Werte hintereinander sich bestätigen und die unter irgendeiner Verteilungsfunktion angenommenen Wahrscheinlichkeiten sich multiplizieren. Bei Zusammenfassung der Resultate unter anderen Gesichtspunkten als dem Zeitpunkt nach dem Versuchsbeginn gelingt es schließlich auch, mehr Tiere unter einen Aspekt zusammenzufassen.

Resultate, geordnet nach der Zeit.

Die Resultate ohne Umrechnung, und zwar die Durchschnitte, Streuungen und Korrelationskoeffizienten legen wir auf der Tabelle 1 nieder.

Die Durchschnittswerte des Blutes sollen der Anschaulichkeit halber zugleich auf Abb. 1 wiedergegeben werden, da sie einige Besonderheiten

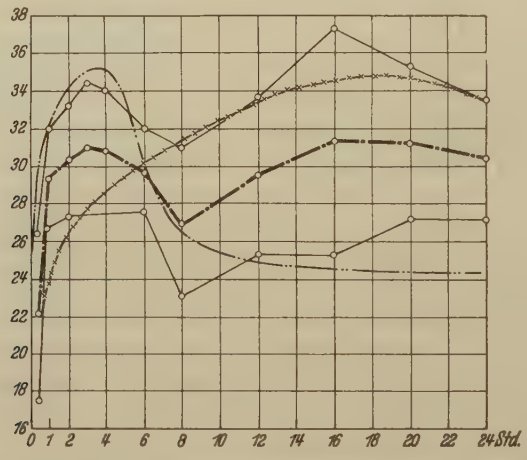


Abb. 1. Jodidkonzentration im Gesamtblut.

Abszisse: Zeit in Stunden.
Ordinate: Konzentration von Jodid in Millimol.
—●—●— Verlauf der Durchschnittswerte.
———— Die Linien, die erhalten werden, wenn die Streuungen von dem Mittelwert nach beiden Seiten abgetragen werden.
—·—·— Zwei willkürliche Kurven, deren Bedeutung im Text ersichtlich ist.
—|—|—|—

bieten, während der allgemeine Verlauf bei Muskel und Leber uns erst nach näherer Analyse interessieren wird.

Auf der Abbildung bietet der Verlauf der Konzentration in den ersten Stunden keine Besonderheiten. Sie steigt an, erreicht ein Maximum entsprechend der Resorption und beginnt zu fallen. In der achten Stunde wird aber ein Minimum erreicht und die Kurve erreicht ein neues Maximum etwa derselben Höhe wie anfangs nach 16 Stunden, um dann erst den typischen Abfall zu erreichen. Erwarten würde man einen einphasischen Verlauf einer aperiodischen Schwingung, der etwa entsprechend der Kurve

$$C = A_1 e^{-a_1 t} + A_2 e^{-a_2 t} *$$

* C = Konzentration, A_1, A_2, a_1, a_2 = Konstanten.

mit der Zeit abliefe. Wenn der Verlauf davon abweicht, wird man zuerst an einen statistischen Fehler denken müssen. Aber die Betrachtung der Streuungen der Differenz zwischen dem Wert bei 3 Stunden und dem bei 8 Stunden ergibt, daß hier schon die Differenz 2,5mal so groß ist wie die Streuung. Diese Differenz wird aber noch bestätigt durch mindestens zwei weitere Punkte, die Werte der Maxima durch je einen Punkt.

Eine Erklärung für die Verhältnisse könnte in dem Verlauf der Streuungen der Kollektive (Kolonne 4 der Tabelle 1) gesucht werden unter Berücksichtigung der Tatsache, daß sich die einzelnen Punkte aus Kollektiven zusammensetzen. Die Streuungen wurden von dem Durchschnitt auf der Kurve nach oben und unten abgetragen. Es ist nur natürlich, daß bei dem ersten Zeitpunkt die Streuung einen hohen Wert (absolut) und relativ sogar den höchsten erreicht, da die Resorption aus dem Bauchlymphsack bei manchen Tieren schleppend, bei anderen aber sehr rasch ist, während die Ausscheidung in einer halben Stunde (und selbst in einigen Stunden) praktisch nicht in Frage kommt. Hier sind zwei Faktoren zu beachten, die zur Höhe der Konzentration beitragen, nämlich die Resorptionsgeschwindigkeit und die Größe des Bettes, in dem der Strom aufgenommen wird. d. h. die Größe der spatialen Räume. Da beide ihre eigene

Tabelle 1.

1.	2.	3.	4.	4a.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Zeit in Std.	Zahl der Tiere	Blut mMol	Streuung in mMol	Streuung in %	Konzentrationen Muskel mMol	Konzentrationen Leber mMol	Korrelationskoeffizienten Blut/Muskel	Korrelationskoeffizienten Blut/Leber	Korrelationskoeffizienten Leber/Muskel	Quotient Konzentration Leber/Muskel
½	10	22,0 ± 1,38	4,36	19,9	3,36 ± 0,37	7,11 ± 0,56	+ 0,90	+ 0,54	+ 0,70	2,35
1	12	29,4 ± 0,77	2,69	9,2	5,34 ± 0,21	9,12 ± 0,25	+ 0,79	+ 0,28	− 0,08	1,76
2	10	30,3 ± 0,93	2,94	9,7	6,13 ± 0,27	11,66 ± 0,41	+ 0,70	+ 0,61	+ 0,37	1,95
3	12	31,0 ± 1,00	3,47	11,2	6,16 ± 0,20	12,09 ± 0,52	− 0,03	+ 0,28	+ 0,40	1,97
4	10	30,8 ± 1,02	3,22	10,4	5,52 ± 0,22	11,62 ± 0,48	+ 0,04	+ 0,10	+ 0,29	2,12
6	13	29,8 ± 0,60	2,17	7,3	5,44 ± 0,21	11,70 ± 0,64	+ 0,54	+ 0,80	+ 0,36	2,18
8	10	27,0 ± 1,26	4,00	14,8	4,73 ± 0,35	9,97 ± 0,50	+ 0,38	+ 0,57	+ 0,52	2,18
12	13	29,5 ± 1,14	4,12	13,9	4,62 ± 0,28	10,89 ± 0,49	+ 0,88	+ 0,34	+ 0,21	2,45
16	11	31,3 ± 1,82	6,02	19,3	4,25 ± 0,31	10,03 ± 0,56	+ 0,57	+ 0,46	+ 0,69	2,41
20	10	31,2 ± 1,29	4,09	13,1	4,60 ± 0,33	10,31 ± 0,39	+ 0,85	+ 0,32	+ 0,53	2,34
24	10	30,4 ± 1,04	3,30	10,9	4,19 ± 0,20	10,55 ± 0,60	+ 0,71	+ 0,09	+ 0,55	2,42

Streuung besitzen, müssen im Gesamten sich in üblicher Weise die Streuungen addieren: $\sigma_{1,2} = \sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}$. Sehr rasch muß der erste Summand (σ_1 entsprechend der Resorption) an Bedeutung verlieren und es bleibt dann eine kleinere Streuung $\sigma_{1,2}$ übrig.

Man wird jetzt eine Vorstellung zu gewinnen versuchen, wie in den beiden Bündeln, in denen wir schlecht und gut resorbierende Frösche zusammenfassen, sich der weitere Verlauf der Blutkonzentrationen gestalten wird, wenn wir die gesamten individuellen Kurven im Sinne der aperiodischen Schwingung verlaufend denken. Das sollen die beiden willkürlichen Kurven auf Abb. 1 zeigen. Es ergäbe sich dann folgendes: Wir können die je 10—13 Frösche, die zu den verschiedenen Zeitpunkten getötet wurden, als ein Kollektiv ansehen (oder Repräsentanten einer in einer großen „Urne" befindlichen Verteilung), dessen Einzelindividuen wir jetzt nicht im Mittelwert vereinigt denken wollen, sondern die in zwei Gruppen geteilt wurden, deren Zentren jetzt etwa im Abstand der einfachen Streuung oberhalb und unterhalb des Durchschnitts liegen mögen. Wenn die gut resorbierenden Frösche sich — eingedenk unserer früheren Korrelation — auch dadurch auszeichnen, daß sie besser ausscheiden, oder wenn sie wenigstens nicht schlechter ausscheiden, dann müssen diese bald zunehmend in das obere Bündel der beiden vorher getrennten Gruppen gelangen, wie auf dem Bilde dargestellt, da die Ausscheidung mit der Konzentration im Plasma steigt. Es gibt also einen „Schnittpunkt" dieser beiden Gruppen, der sich nur darin zeigen kann, daß die Streuungen jetzt kleiner werden. Wir haben also eine heteroscedastische Kurve[9] vor uns, die hier gewissermaßen eine theoretische Erklärung fand. Zwangsläufig müssen nach diesem Minimum die Streuungen wieder zunehmen, wie auch die Kurve zeigt. Diese Interpretation kann aber der Tatsache nicht gerecht werden, die zuerst schon darin zu suchen ist, daß die Resorption unter diesen Bedingungen nie so lange andauert, wie die früheren Versuche[2] ergaben. Vor allen Dingen würde wegen der auf die Dauer doch merkbaren Ausscheidung das zweite Maximum in dieser Höhe ganz unerklärlich bleiben, jedenfalls nicht den Wert des ersten Maximums erreichen.

Ich gebe in Tabelle 2 die Durchschnitte einer Reihe von Versuchen wieder, bei denen die Tiere sonst gleich, aber nur mit der halben Dosis behandelt worden waren (10,72 mMol/kg).

Wir ersehen aus diesen Zahlen, daß hier in den von uns betrachteten Zeiten die Konzentration im Blute beträchtlich abzusinken beginnt. Wir werden daraus schließen, daß ein biologischer Prozeß für die senkundäre Steigerung in den Versuchen mit der hohen Dosis verantwortlich zu machen ist, der bei der niederen Dosis gar nicht oder nur wenig in Anspruch ge-

[9] Rietz, H. L.: Mathematical Statistics. Chicago. Mieses, R. v.: Wahrscheinlichkeitsrechnung und ihre Anwendung. Deuticke 1941. Die neueren Entwicklungen von van der Waerden, Prigge u. Stelling wurden von uns noch nicht benutzt, da für unsere Fragestellung die bisherigen Methoden ausreichten.

Tabelle 2.

Zeit Std.	Zahl der Tiere	Blut mMol/l	Konzentration in den Organen in mMol			
			Muskel	Leber	Niere	Haut
2 — 3	9	17,6	3,06	8,4	13,7	16,3
6	4	18,8	3,94	8,31	13,2	16,6
18 — 24	5	14,5	3,0	8,07	11,5	14,3
Korrelation r Organ/Blut			+ 0,79	+ 0,26	+ 0,56	+ 0,70

nommen werden muß. Eine Andeutung sehen wir auch bei diesen Zahlen in der Tatsache, daß in der sechsten Stunde die Konzentration im Blute höher ist als in dem ersten Zeitabschnitt. Hier wäre der Schluß zulässig, daß die Resorption jetzt erst den Höhepunkt erreicht hat, wenn nicht zugleich die Konzentration der Haut der des Blutes folgte. Aber nach unseren früheren Untersuchungen[2], die sich ausgiebig mit dem Problem beschäftigten, war bei der Resorption gerade die Haut die Quelle, aus der der Nachschub ins Blut gespeist wurde, und nicht die Lymphe, die beim Frosch viel zu rasch zirkuliert.

Der von uns als biologisch bezeichnete Prozeß bestände in einer Einengung des Strombettes, so daß die Jodkonzentration notwendig ansteigen muß, obwohl ja die Ausscheidung schon eine ganze Menge von Jodid aus dem Organismus beseitigt haben muß. Nach 16 Stunden wäre das nach unseren früheren Versuchen[1] rund $^1/_4$ der aufgenommenen Menge, nach neueren Versuchen aus dem Winter 1932/33, die demnächst zur Veröffentlichung kommen sollen, sogar etwa 40%. In diesen Zahlen werden wir aber zu hohe Werte sehen müssen, da die Ausscheidung durch verschiedene Momente beeinflußt wird, z. B. durch das Abdrücken der Frösche. Da die Frösche in unseren Versuchen nicht berührt wurden, fällt diese Begünstigung (etwa durch Verhütung der Rückresorption in der Kloake) fort. Leider stand uns keine Methode zur Verfügung, um die Ausscheidung wirklich exakt und quantitativ zu verfolgen, ohne daß unsere Versuchsbedingungen, nämlich Absperrung von jeder Flüssigkeitsaufnahme, durch brochen wurden. Ohne diese Bedingungen sind Methoden von Krogh[10] und Sulze[11] angegeben worden und auch wohl sonst in Laboratorien im Gebrauch.

Der Verlauf der Konzentrationen in der Muskulatur (Spalte 5 der Tabelle 1) ist so, wie wir es eigentlich bei dem Blut auch erwarteten, d. h. nach einem Maximum kommt ein allmählicher Abfall. Dieser ist jetzt aber dadurch auffällig, daß er nicht den Konzentrationen des Blutes folgt. An sich müßte man erwarten, daß die Konzentration im Muskel mit der Konzentration des Blutes steigt, da das Jodid im Muskel sich im Blute (zum kleinsten Teil) oder in den extracellulären Räumen befindet, die ihren Gehalt nach dem des Plasmas richten, da die dort befindliche Flüssig-

[10] Krogh, A.: The osmotic. Regulation in aquatic. animals. Cambridge, University Press, 1939. — [11] Sulze: Vielfache Dissertationen. Leipzig 1933—1938.

keit ein Ultrafiltrat des Plasmas darstellt. Natürlich wird die Ausdehnung dieser den Anionen zugänglichen Räume eine größere Schwankung entsprechend dem Bau des Muskels und dem Stoffwechselzustand in den Zellen aufweisen, die so lange unabhängig von der Konzentration des zum Test gegebenen Anions sein wird, so lange die Konzentration derselben nicht auf die Ausdehnung dieser Räume direkt einwirkt. Daher wird die Konzentration der Muskulatur mit der des Blutes nicht funktionell (etwa wie Plasma und Lymphe) zusammenhängen, sondern stochastisch.

Wie groß diese Verbundenheit sein kann, zeigen die Korrelationskoeffizienten (Spalte 7 der Tabelle 1), über deren bedingte Brauchbarkeit wir uns in dem vorhergehenden Kapitel verbreitet haben, worauf ausdrücklich hingewiesen sei. Der Wert nähert sich nach einer halben Stunde mit + 0,90 fast der funktionellen Abhängigkeit (d. h. der Größe 1) als Zeichen der engen Verbundenheit. Systematisch sinkt dieser Wert, bis er um die dritte und vierte Stunde eine völlige Unabhängigkeit der Konzentrationen anzeigt. Hier setzen Prozesse ein, die die Beziehungen stören und auf die Eigenwirkung des Jodids zurückzuführen sind. Bei den Versuchen mit der halben Dosierung (Tabelle 2) findet diese Störung noch nicht statt.

Die Verhältnisse werden deutlicher und gewinnen an Anschauung durch eine Umrechnung der erhaltenen Werte, die wir in Tabelle 3 vorlegen.

Tabelle 3.

1.	2.	3.	4.	5.
Zeit in Std.	Konz./Plasma mMol	Durchschnittliche extracelluläre Räume des Muskels in %	Korrelation der Werte 2—3	Gesamter Lösungsraum in %
½	25,9	12,7	+ 0,59	86,1
1	34,7	15,3	+ 0,23	62,2
2	35,8	17,2	— 0,26	60,5
3	36,5	17,1	— 0,61	59,1
4	36,3	15,4	— 0,66	60,1
6	35,3	15,3	+ 0,14	61,0
8	31,7	15,0	— 0,23	69,0
12	35,2	13,0	+ 0,32	62,0
16	37,0	11,6	— 0,24	60,2
20	36,8	12,4	+ 0,42	59,3
24	35,5	11,8	— 0,07	61,2

Die Tabelle bedarf einer Erläuterung wegen der Umrechnung. Diese erfolgte zuerst, um einen Wert des Blutplasmas zu erhalten. 24% nehmen nach dem Hämatokriten im Blute der Frösche die Erythrocyten ein. Über die Anionenpermeabilität dieser Erythrocyten haben sich keine Angaben gefunden.

Der Quotient $\frac{\text{Konz. der Erythrocyten}}{\text{Konz. des Plasma}}$ liegt bei Warmblütern in der Norm bei 0,50; bei der Schildkröte gibt Henderson[12] den Wert mit 0,374—0,43 an.

[12] Henderson, L. J.: Blut. Dresden und Leipzig 1932. Der hohe Wert bei CO_2-Überladung in den Venen.

Wir haben, um einen Einblick in die Konzentration des Ultrafiltrats (Donnanquotient) bzw. des Plasmas zu erhalten, den Blutwert mit 1,18 multipliziert (nach Volumen der Erythrocyten und Verteilungsquotient). Das sind die Zahlen der Spalte 2 in Tabelle 3. Durch Division der Konzentration im Muskel durch diese Werte erhält man den prozentualen Anteil der extracellulären Räume des Muskels, deren Durchschnitte in Spalte 3 wiedergegeben wurden. Spalte 4 gibt die Korrelationskoeffizienten zwischen den Werten der Spalte 2 und 3.

Ganz natürlich erscheint es, daß eine halbe Stunde nach der Injektion die Proportionalität zwischen der Konzentration im Blute und im Muskel fast erreicht ist, weil die Schwankung in der Resorption (und damit die Konzentration im Blute) groß ist und da eine direkte Beeinflussung in der Kürze der Zeit und wegen des erst wachsenden J′-Ansturmes noch nicht wesentlich in Rechnung zu stellen sein dürfte. In dieser Situation werden wir also bei Berechnung des Jodids, d. h. der extracellulären Räume, keine irgendwie geartete Verbundenheit erwarten dürfen — wie aus unserer obigen Darstellung hervorgeht —, findet sich doch auch bei Gabe von Jodid, Rhodanid, Bromid usw. zur Bestimmung der extracellulären Räume keine Beziehung zur Substanz, wenn sie in genügend geringer Dosis verabfolgt wird. Trotzdem finden wir hier einen positiven Korrelationskoeffizienten von + 0,59, kleiner als bei direkter Beziehung, aber doch deutlich. Also müßten — um die Dinge ins Anschauliche zu übersetzen — die Räume bei denjenigen Fröschen größer sein, die rasch resorbieren. Handelt es sich hier um eine direkte konstitutionelle Beziehung, oder liegt doch eine Anfangswirkung des Jodids vor? Wir werden ohne Zwang letztere Erklärung für richtig halten, denn durch Tätigkeit wird der Cl′-Gehalt der Muskulatur vermehrt [13] gefunden, zugleich mit Verlust osmotisch aktiver Substanz, z. B. Kalium [13–16].

Für Jodid wurde dasselbe in früheren Versuchen auch gefunden, indem der gereizte Muskel mehr J′ aufnahm und festhielt als der ungereizte Muskel (Eichler [2], S. 74). In noch anderen anschließend publizierten Versuchen [17] zeigt sich ebenso der Verlust an Kalium. Beides sind Ausdrücke für die gleich nach der Injektion auftretende Aufregung, die zu starkem Einherspringen der Frösche und sogar zum „Schäumen" führt. Zunahme der Räume wird nach Tipton [14] größer mit der Dauer des Reizes. Damit ist noch nicht erwiesen, daß tatsächlich bei den Tieren, die rasch resorbieren, auch der Reiz größer wird, der ja nur als reflektorischer von der lokalen Einwirkung am Lymphsack einzutreten vermag. Nun ist die hier zur Erklärung herangezogene Dauer der Erregung zu kurz, um die weitere Entwicklung der extracellulären Räume zu motivieren, die ja (Spalte 3 der Tabelle 3) noch bis zur dritten Stunde zunehmen. Hier handelt es sich um eine direkte Einwirkung des Jodids und zusätzlich auch des osmotischen

---

[13] Fenn, W. O., D. M. Cobb, J. F. Manery u. W. R. Bloor: Amer. J. Physiol. **121**, 595 (1938). — [14] Tipton, S. R.: Amer. J. Physiol. **124**, 322 (1938). — [15] Fenn, W. O.: Cold Spring. Harbor Sympos. quant. Biolog. **4**, 252 (1936). — [16] Fenn, W. O., u. D. M. Cobb: J. cellul. a. comp. Physiol. (Am.) **6**, 469 (1935). — [17] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199** (1942).

Druckes. Wenn wir diese Weiterentwicklung berücksichtigen, dann erklärt sich zwanglos die positive Korrelation in der ersten halben Stunde nach der Injektion. Die durch die Erregung eingeleitete Entwicklung wird in derselben Richtung fortgeführt durch das Jodid, und zwar selbstverständlich um so mehr, je rascher der Jodidanstieg erfolgt. Damit ist eine Einheit hergestellt und wir haben den Beginn der pharmakologischen Wirkung am Muskel erfaßt.

Daß die Erscheinungen noch nicht weit fortgeschritten sein können, ist aus der durchschnittlichen Größe der extracellulären Räume ersichtlich, die man aus Angaben der Literatur errechnen kann, z. B. nach Mond und Netter[5b] nach derselben Umrechnung vom Blut wie hier, 11,4%, wenn der Cl′-Gehalt zugrunde gelegt wird. Wir haben in eigenen Versuchen denselben Cl′-Gehalt der Muskeln gefunden. Nach Hogartz[17a] kommt man einmal sogar auf 14,3%.

Die Wirkung ist aber hier nicht dieselbe, wie z. B. Tipton[14] sie nach der Reizung von Rattenmuskeln anfangs findet. Bei der Reizung findet sich zugleich eine Zunahme des Wassergehaltes, während hier der Wassergehalt ausschließlich abnimmt. Darüber mögen einige Versuche der Tabelle 4 Auskunft geben.

Tabelle 4.

	Trockengehalt in % normal	nach Jodid	Änderung in %	Stickstoffgehalt in % normal	nach Jodid	Änderung in %
Muskel	22,3 (6)	25,0 (8)	12,0	2,98 (12)	3,35 (12)	12,4
Leber	30,5 (6)	33,1 (8)	8,5	1,85 (11)	2,15 (12)	16,2

Die Gewebe wurden nach Shakell — wie oben angegeben — getrocknet bis zur Gewichtskonstanz, der Stickstoffgehalt in dem Pulver nach Kjeldahl bestimmt und auf Feuchtgewicht berechnet. Die Zahlen in Klammern bedeuten die Zahl der Tiere, deren Einzelwerte zu unseren durchschnittlichen Zahlen führen. Die Tötung und Analyse erfolgte nach 3 Stunden (9 Tiere), der Rest nach 1 und 2 Stunden beim Stickstoffgehalt, beim Trockengehalt ist nur ein Tier von 1 Stunde darunter. Die Versuche fanden durchweg im November 1931 statt. Die Frösche waren außerordentlich gut genährt, die Leber hellgelb, mit Nährstoff gefüllt und daher wurde auch der Trockengehalt so außerordentlich hoch gefunden. Bei einer Serie im März 1932, also bei demselben Tiermaterial, aber nach der Hungerperiode des Winters, war in einigen orientierenden Versuchen der Ausschlag nicht mehr so eindeutig*. Jodgabe in jeder Serie 21,43 mMol/kg.

Als Resultat aus der Tabelle 4 ersehen wir, daß die Muskeln an Wassergehalt abgenommen haben im Gegensatz zu den anfänglichen Resultaten von Tipton[14]. In seinen Versuchen nimmt der Wassergehalt der Muskeln

---

[17a] Hogartz, W.: Pflügers Arch. **230**, 668 (1932).

* In dieser Serie wurde auch untersucht, ob durch den Aufenthalt bei der Temperatur des Laboratoriums in feuchten Kammern ein Wasserverlust gegenüber den Tieren, die direkt aus dem Keller, also völlig frisch verarbeitet wurden, stattfinde. Der Aufenthalt dauerte bis 50 Stunden, ohne daß ein signifikanter Ausschlag zur Beobachtung kam.

bis zum Maximum nach 45 Minuten Reizdauer zu, dann aber wird dieser Gewinn allmählich geringer und schlägt schließlich nach dreistündiger Reizung in einen Verlust um. Aber auch dann sind unsere Werte nicht identisch mit den seinen, und zwar erstens ist der Betrag bei uns viel größer und vor allem ist der Ausschlag in derselben Richtung und derselben Größe auch bei den wenigen Tieren [2] zu finden, die nach 1 Stunde, und dem einen Frosch, der nach 2 Stunden getötet wurde. Ob bei unserer Behandlung die Hypertonie ausschließlich geeignet ist, die Ausschläge zu erklären, ist nicht ersichtlich. Obwohl wir in einzelnen Versuchen mit hypertonischer NaCl-Lösung qualitativ dieselben Effekte beobachten konnten, fehlen die quantitativen Beweise (NaCl wurde allerdings in doppelter Konzentration verabreicht). Der Unterschied der Effekte gegenüber der Reizung beweist auch den peripheren Angriffspunkt des Jodids, da eine erhöhte Erregbarkeit des Rückenmarks nur zu Folgezuständen entsprechend der Reizung führen dürfte.

Am Rande möchten wir auf die Gleichheit in der prozentualen Änderung in dem Muskel sowohl von Stickstoff als auch in den Trockenwerten hinweisen. Das spricht gegen eine Veränderung des Glykogengehalts der Muskeln in dieser Stunde. Wir haben in einer früheren Arbeit [1] einen vermehrten Milchsäuregehalt der Muskulatur zu dieser Zeit gemessen und schon damals darauf hingewiesen, daß hierbei diese Milchsäure wahrscheinlich von den geschädigten, dem Raum des Lymphsackes anliegenden Muskeln entstammt und von dort durch das Blut erst im Körper verschleppt wird. Dieser damalige Hinweis würde mit unseren Befunden konform gehen. Man könnte höchstens die Frage stellen, ob eine auf diesem Wege entstehende Acidose unsere Resultate erklären könnte. Hastings und Eichelberger [18] fanden nach HCl eine Zunahme der extracellulären Räume im Muskel des Hundes, und ebenso Coulaert und Mitarbeiter [19] nach Milchsäuregaben. In beiden Fällen waren aber die Gaben der Säure sehr hoch, während die Steigerung der Milchsäure in unseren Versuchen gerade bei Fröschen in dieser Jahreszeit nur gering und von kurzer Dauer ist. Diese Schwierigkeiten sind hier nur anzudeuten und sollen die Möglichkeiten aufzeigen. Gegen Bewegungen als Ursache der Beobachtungen spricht das Verhalten der Leber, deren Wassergehalt dem des Muskels entspricht, aber ohne Parallelität zum Stickstoffgehalt. Die Leber wird uns auch sonst noch besondere Schwierigkeiten aufgeben.

Diese Exkursion sollte gewissermaßen Rechenschaft über den Verlauf im Verhalten der extracellulären Räume während der ersten halben Stunde nach der Injektion und auch der folgenden Zeit ablegen. Wenn wir jetzt die weitere Entwicklung der Korrelationskoeffizienten betrachten, sehen

---

[18] Hastings, A. B., u. L. Eichelberger: J. biol. Chem. (Am.) **117**, 73 u. **118**, 197 (1937). — [19] Caulaert, C. van, P. S. Pétrequin u. J. Bauer: C. r. Soc. Biol. **106**, 1041 (1931).

wir in der dritten und vierten Stunde bei direkter Berechnung ein Aufhören jeder Beziehung (Tabelle 1, Spalte 7). Bei Berücksichtigung der extracellulären Räume (Tabelle 3, Spalte 4) finden wir den entschiedenen Übergang zu negativen Werten, die in einigen orientierenden (aber nicht bestätigten) Versuchen auch bei den Wertepaaren Konz. Blut – Konz. Muskel in Erscheinung traten. Über die Konsequenzen für die Kollektive wurde in der Einleitung gesprochen. Diese negativen Werte, die nicht etwa unvermittelt auftreten, sondern allmählich sich ankündigen, fallen in die Zeit, bei der das erste Maximum der Blutkonzentrationen überschritten wird und auch die Konzentrationen im Muskel gerade durch ihr Maximum laufen. Sie würden bedeuten, daß die extracellulären Räume groß sind, wenn die Konzentration im Blut klein ist und umgekehrt. Man könnte diese einfache interesselose Formulierung auch anders fassen und damit einen Schritt weitergehen, nämlich: Die Konzentration im Plasma ist klein, weil die extracellulären Räume groß sind, denn dadurch wird das Bett des Jodstromes verbreitert.

Wenn wir uns mit dieser qualitativen Feststellung begnügten, wäre das am Anfang gegebene Problem der Empfindlichkeiten im Kollektiv eindeutig und schön gelöst und als Täuschung durch zu oberflächliche Betrachtung entlarvt, d. h. in den Veränderungen der Muskulatur liegt nicht nur ein Grund zu größeren oder geringeren Giftwirkungen, sondern auch zur mehr oder weniger guten Ausscheidung. Daß wir uns aber mit einer qualitativen Feststellung auch in der Biologie nie beruhigen dürfen, zeigten jetzt Überlegungen, die sich aus einem Blick auf die Spalte 5 der Tabelle 3 ergeben.

Die Zahlen der Spalte 5 wurden gewonnen in der Art, wie sonst die extracellulären Räume abgeschätzt werden. Das Verfahren hat jetzt auch in der Klinik die ersten Bearbeitungen gefunden und zu interessanten Resultaten geführt [20].

Wenn man eine Bezugssubstanz, berechnet nach Gewicht, einem Organismus einverleibt, dann wird ihre Konzentration im Plasma unter Berücksichtigung der Ausscheidung um so niedriger sein, je mehr sie fähig ist, das gesamte im Organismus vorhandene Lösungswasser zu erreichen. So lösen sich Kalium oder die Sulfonamide usw. in der gesamten Flüssigkeit, während die Anionen, wie Cl′, Br′, SCN′ und auch Jodid, nur in die extracelluläre Phase eindringen können. Beim gesunden erwachsenen Menschen schwankten nach Roller [20] die Werte um 25% des Körpergewichtes. Für den Frosch liegen solche Bestimmungen nicht vor.

Wir machten uns die Berechnung leicht, indem wir als Grenzkonzentration die Dosierung annahmen, die sich gleichmäßig auf das Gewicht verteilt, d. h. die Konzentration müßte 21,43 mmolar sein bei gleichmäßiger Verteilung, d. h. wenn 100% des Körpervolumens sich an der Löslichkeit beteiligen würden. Tatsächlich ist die Konzentration im Plasma höher, entsprechend den Werten der zweiten Spalte der Tabelle 3. Division von 21,43 durch die Werte der Spalte 2 ergibt den

[20] Molenaar, H., u. D. Roller: Z. Klin. Med. **136**, 1 (1939).

Prozentsatz des Raumes, der für die Lösung des Jodids in Frage kommt*. Hier haben wir nicht die Flüssigkeit allein beachtet. Würde diese etwa mit 75% des Körpergewichts angesetzt, dann erhielten wir größere Werte, die unsere Abschätzungen nur noch verstärkten. Uns leisten diese Zahlen der Tabelle 3 ausreichende und bessere Dienste.

Die Lösungsräume müssen abhängig sein von der Resorption, d. h. solange noch im Lymphsack und der anliegenden Haut merkliche Mengen Jodid vorhanden sind, erscheinen die Räume zu groß. Für später gilt dasselbe, wenn merkliche Mengen von Jodid durch Ausscheidung den Organismus verlassen haben. Nach 1 Stunde schon sehen wir fast Konvergenz zu einem Wert von rund 60% des Organismus. Da in diesem Zeitpunkt die Ausscheidung kaum ins Gewicht fällt, wird man mit 60% die gesamten Räume annehmen müssen, d. h. diese Werte sind beim Frosch viel höher als bei den höheren Tieren. Das ist bedingt durch die große Menge von Lymphe und den hohen Anteil der Haut im Verhältnis zu anderen, für Cl' und Jodid nicht zugänglichen Organen. Diese Werte wurden noch bestätigt durch die Daten, die man aus den Versuchen von Tabelle 2 erhält. In diesen Versuchen erhielten die Tiere genau die halbe Menge an Jodid. Der lösende Raum in den ersten beiden Stunden beträgt 61%, also eine Übereinstimmung, die nicht besser sein kann und die Bedeutung einer direkten Jodidwirkung in den Hintergrund treten läßt.

Damit haben wir die Grundlage zu einer quantitativen Abschätzung gewonnen. Wir fragen, welche Bedeutung die Änderung des extracellulären Raumes in der Muskulatur für die Entwicklung der Konzentrationen im Blute haben kann.

Nach vielfachen Messungen fand man, daß die Muskulatur rund 50% des gesamten Körpergewichtes ausmache. Wenn die Räume in diesem großen Anteil des Organismus sich um 1% verändern, würde das eine Veränderung der gesamten verfügbaren Räume um rund 0,5%, d. h. der Hälfte bedeuten. Will man jetzt zu der Änderung der Konzentrationen im Blute übergehen, dann wäre durch eine entsprechende Abnahme der Räume die Konzentration um 0,83% erhöht. Geeignet für solche Untersuchungen sind die Bewegungen von der achten zur zwölften Stunde. Da nimmt die Konzentration im Plasma zu, aber die Räume des Muskels ab. Unter den hier skizzierten Voraussetzungen würde bei einer Abnahme der intracellulären Räume von 15 auf 13% die Konzentration im Plasma von 31,7 auf 32,2 mMol (statt 35,2) steigen, entsprechend im nächsten

* Wenn man versuchen würde, die Zahlen der Spalte 5 auf dem hier angegebenem Wege aus den Zahlen der Spalte 2 zu erhalten, würden andere Werte erscheinen, weil die Zahlen der Spalte 5 Durchschnittswerte aus den in Einzelversuchen erhaltenen Resultaten darstellen. Die beiden Werte würden nur dann identisch sein, wenn die Werte C_{Pl} keine Streuung aufwiesen. Die Weitererrechnung auf Flüssigkeit bedarf aber nicht der Einzelwerte, sondern der einfachen Multiplikation auf einen Faktor, z. B. 100/75, wenn der Flüssigkeitsgehalt mit 75% angenommen wird.

Zeitabschnitt von 35.2 auf 35.6 mMol (statt 37,0). Die Veränderungen in der Muskulatur sind also durchaus geeignet, die Ausscheidung zu begünstigen, jedoch reichen die Veränderungen quantitativ bei weitem nicht aus, zumal bei unseren Abschätzungen der Fortgang der Ausscheidung gar nicht in Rechnung gestellt wurde. Z. B. bei den Werten von der dritten zur vierten Stunde würden die Räume, die zur Lösung zur Verfügung stehen, durch die Veränderung in der Muskulatur um 0,83% vermindert werden. In dieser Stunde änderte sich die Konzentration im Blute kaum, trotzdem haben 0,83% des Vorhandenen die Möglichkeit zur Ausscheidung gehabt, und zwar ohne daß bei gleicher Konzentrationsarbeit der Niere die gleiche Wassermenge für die Ausscheidung disponiert werden mußte, als wenn die Konzentration während dieser Zeit abgesunken wäre.

Obwohl die Ausscheidung fortschreitet, zeigt sich eine Zunahme des gesamten Lösungsraumes nicht, also ein Zeichen, daß auch andere Räume die zur Aufnahme des Jodids fähig sind, eine Einschränkung erfahren. Das würde allgemein auf einen Abbau in der Körpersubstanz hinweisen, Verlust an Lymphe usw. Darüber sind zur Zeit keine besonderen Angaben zu machen.

Nur kurz wollen wir auf die Korrelationsverhältnisse zwischen den Konzentrationen in Blut und Leber eingehen (Spalte 8 der Tabelle 1). Die Beziehung ist erstens stets positiv, auch mit einem Minimum in der dritten und vierten Stunde wie beim Muskel, aber wenn wir das Verhältnis zwischen Leber und Muskel direkt untersuchen (Spalte 9 der Tabelle 1), dann sehen wir auch jetzt nicht die nach den Werten der Durchschnitte erwartete hohe Korrelation, sondern eher eine Abnahme. Dagegen findet sich die Beziehung gegen Ende des Versuchs zunehmend geordneter. Auch bei den Werten der Tabelle 2, die von Versuchen mit der halben Dosierung stammen, fällt die Leber auf durch die fast fehlende Proportionalität des Jodidgehaltes mit der Konzentration des Blutes, gerade auch hinsichtlich der anderen noch untersuchten Organe wie Niere und Haut selbst. Nur in der ersten halben Stunde gibt es die erwartete Beziehung, die aber schon nach einer weiteren halben Stunde fehlt und daher nicht zu werten ist.

Man könnte natürlich auf den Gedanken kommen, daß Jodid in der Leber in andere Räume als in die extracellulären eindringt. Da das für ein Anion unwahrscheinlich ist, bestände die theoretische Möglichkeit, daß Jodid in irgendeiner Form gespeichert wird. Als Speicherungsform wäre natürlich zuerst die Möglichkeit zu beachten, daß Jodid durch Oxydation in elementare Form überführt und ähnlich wie bei Bestimmung der Jodzahl der Fette sich an die Doppelbindungen anlagert. Gegenüber den anderen Halogenen besteht gerade beim Jodid diese Möglichkeit, weil Jod nur auf ein geringeres Oxydationspotential gehoben werden muß, um in elementare Form überzugehen.

Um diese Möglichkeit auszuschließen, wurden sechs Frösche mit Jodid behandelt und nach 4 Stunden getötet. Die Lebern wurden nach Shakell

getrocknet und 4 Tage mit Äther extrahiert. Es fand sich im Ätherrückstand nicht eine Spur von Jod, so daß also diese primär unwahrscheinliche Möglichkeit auszuschließen ist.

Demgegenüber ließ sich Jodid aus den mit Ringer durchspülten Lebern leicht bis auf wenige Prozent ausspülen. Frösche erhielten Jodid in den üblichen Mengen. Die Tiere wurden getötet und die Lebern durchströmt, nachdem ein Lappen abgebunden war zur Feststellung des Ausgangswertes. Nach Durchspülung von 10 ccm war die abtropfende Flüssigkeit nach der Färbung blutfrei. Jetzt war die Konzentration auf 25% des Anfangswertes gesunken. Wurde jetzt noch mit weiteren 3—4 ccm durchspült, dann sank die Konzentration auf 10—15%.

Auf das Verhalten der Leber werden wir im nächsten Abschnitt noch eingehen.

Die Regressionslinien.

Die bisherige Betrachtung ließ in den vorliegenden Analysenresultaten den Ablauf in der Zeit als vorgegebenes Ordnungsprinzip bestehen. Wir gehen jetzt davon aus, daß wir den Zeitfaktor einen Augenblick übersehen und die Konzentration, z. B. des Blutes, ganz gleich zu welcher Zeit, in den Vordergrund stellen. Dieses Vorgehen ist durchaus berechtigt oder zum mindesten ganz gebräuchlich, da in erster Annäherung die Wirkung einer Substanz direkt proportional (oder in einer Funktion stetig steigend) mit der Konzentration angenommen werden kann*. Dabei leitete uns auch folgender Nebengedanke: In den bisherigen Rechnungen war der Korrelationskoeffizient zwischen den Konzentrationen im Blute (oder Plasma) und Muskel immer positiv gefunden worden. Wir lernten verstehen, daß diese Beziehung sich aus der relativen Geringfügigkeit der Muskelräume im Verhältnis zu dem gesamten Lösungsraum ergibt. Nun bestanden zu den verschiedenen Zeiten in der Konzentration des Plasmas beträchtliche Schwankungen. Wir hofften nun dadurch, daß wir die Blutwerte in engerem Bereich festlegten und jetzt die zugehörigen Werte von Muskel und Leber mit ihnen in Beziehung setzten, doch noch den erwarteten Effekt, d. h. negative Korrelationskoeffizienten, zu erhalten. Diese Resultate geben wir auf Tabelle 5 wieder.

Wie zu erwarten, zeigen die Werte der Spalte 6 zwar den Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von Blut und Muskel und ebenso zwischen Blut und Leber (Spalte 7) gelockert, aber der Koeffizient wird doch nicht in der erwarteten Weise negativ. Die Verbundenheit zwischen den Organen untereinander (Spalte 8) ist sogar noch enger als zwischen ihnen einzeln mit dem Blute. Wir können aus diesen Zahlen keine Schlüsse ableiten. Auch wenn umgekehrt die Konzentration im Muskel in engem Bereich festgelegt wird, findet sich keine besondere Beziehung.

---

* Außerdem wiesen die Blutkonzentrationen zu den verschiedenen Zeiten keine sehr große Schwankung auf.

Tabelle 5*.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
Konzentrationsgrenze (mMol) im Blut	Zahl der Tiere	Durchschnittliche Konzentrationen			Korrelationskoeffizienten			Interstitielle Räume in %		Gruppennummer der Abbildungen 3—4
		Blut	Muskel	Leber	Blut / Muskel	Blut / Leber	Muskel / Leber	Muskel	Leber	
< 20	5	18,5 ± 0,79	2,51 ± 0,10	6,79 ± 0,66	(+ 0,50)	(+ 0,34)	(+ 0,74)	11,5	31,1	
20 - 25	15	23,3 ± 0,39	3,63 ± 0,21	8,71 ± 0,47	+ 0,067	+ 0,60	+ 0,22	13,4	31,6	
25 - 27,5	19	26,6 ± 0,18	4,61 ± 0,22	10,2 ± 0,36	- 0,11	- 0,29	+ 0,26	14,6	32,3	I
27,5 - 30	25	28,9 ± 0,14	5,12 ± 0,20	10,5 ± 0,44	+ 0,06	+ 0,17	+ 0,43	15,0	30,9	II
30 - 32,5	24	31,1 ± 0,16	5,48 ± 0,15	11,6 ± 0,30	+ 0,33	+ 0,22	+ 0,54	14,9	31,7	III
32,5 - 35	26	33,7 ± 0,12	5,65 ± 0,18	11,4 ± 0,40	- 0,23	+ 0,22	+ 0,25	14,2	28,7	IV
> 35	7	38,4 ± 0,67	5,51 ± 0,27	11,2 ± 0,99	(- 0,61)	(+ 0,024)	(+ 0,096)	12,2	24,7	

* Die Zahlen sind unmittelbar verständlich. Die extracellulären Räume wurden entsprechend dem Verfahren bei Tabelle 3 über die Plasmawerte gerechnet.

Gebe ich die Konzentration im Muskel zwischen 4—5 mMol (30 Tiere) vor, dann liegen in diesen Analysengruppen alle drei möglichen zweidimensionalen Korrelationskoeffizienten zwischen + 0,24 und + 0,37, unterscheiden sich also kaum.

Dagegen sind von Bedeutung die Regressionslinien selbst, die wir aus den Werten der Spalten 3, 4 und 5 der Tabelle 5 gewinnen können. Die Beziehung zwischen Konzentration im Muskel und angegebener Blutkonzentration wurde auf Kurve 2 gezeichnet (Abb. 2, Linienzug I).

Auf derselben Kurve befinden sich zur Erweiterung die tabellarisch nicht wiedergegebenen Resultate bei umgekehrtem Verfahren, d. h. Vorgabe der Konzentration im Muskel, während die Konzentration im Blute beliebig bleibt, also die inverse Funktion (Linienzug II). Der Anfangsteil der beiden Kurven ist außerordentlich wenig verschieden, zum Zeichen, wie nahe die Beziehung der Konzentrationen im Durchschnitt ist, da der tg des Schnittpunktwinkels ein sicheres Maß für die Verbundenheit der Konzentrationen darstellt. Dagegen ergibt sich, daß im letzten Teil die Linienzüge aufeinander fast senkrecht stehen, d. h. jeder Zusammenhang aufhört. Wir sehen auf Linienzug I, daß die Konzentration im Muskel nicht steigt, wenn ich über eine bestimmte Blutkonzentration hinausgehe, ja sogar absinkt, und umgekehrt wird von

demselben Punkte ab keine Beziehung zu der Konzentration des Blutes mehr gefunden. Shoemaker und Underhill[21a] fanden etwas Analoges bei Kaninchen, indem trotz wiederholter Gaben von Jodid die Konzentration in manchen Organen, z. B. auch Muskel, nicht über einen gewissen Wert hinausging. Offenbar ist hier eine Art Grenze erreicht, oberhalb derer das Leben nicht mehr bestehen kann. Wir können dasselbe Verhalten auf der Tabelle 5, Spalte 5 bei den Durchschnittswerten der Leber sehen, die der Konzentrationssteigerung im Blute nicht mehr folgen, sondern sinken. Es handelt sich also nicht etwa um ein Versagen des

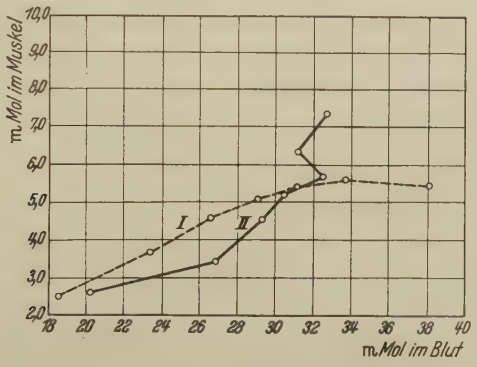


Abb. 2.
Abszisse: Konzentration im Blute in Millimol. Ordinate: Konzentration im Muskel in Millimol. Regressionslinien: Linie I die Bereiche der Jodidkonzentration im Blute wurde festgelegt und die in der Muskulatur bestimmt (entsprechend Tabelle 5, Spalte 3 und 4). Linie II. Die Jodidkonzentration im Muskel wurde festgelegt und die dazugehörige des Blutes aufgesucht.

Herzens oder Kreislaufes, da die Leber dann den Erscheinungen nicht folgen dürfte.

In Spalte 9 und 10 der Tabelle sehen wir das Verhalten der extracellulären Räume. Beim Muskel nehmen sie erst mit der Konzentration zu, um dann um so intensiver zu sinken. Der Anstieg ergibt sich daraus, daß im ersten Wert meist die Versuche 8 Stunden und darüber vertreten sind (rund $^3/_4$). Wichtiger ist die Abnahme der extracellulären Räume bei den höheren Konzentrationen und hier ist das Analoge bei der Leber sichtbar, die noch bis 32,5 mMol keine systematische Abweichung erkennen läßt. Nur bei den hohen Konzentrationen ergibt sich auch hier ein Abfall.

Nach Konstruktion der Regressionslinien unter Vernachlässigung des Zeitfaktors wurden die Werte der Zeit wiederum eingeführt. Man erhält so Kurvenzüge, bei denen die Konzentration im Blute nur in sehr engem Bereiche schwankt und die Konzentration im Organ sich mit der Zeit ändert. Das Verhalten der Muskulatur zeigen die Abb. 3a und 3b.

[21a] Shoemaker, H. A., u. F. P. Underhill: J. Pharmacol. (Am.) **44**, 43 (1932).

Es wurden nur diejenigen Gruppen verwandt, die eine genügende Anzahl von Tieren aufwiesen, so daß also die weitaus meisten erhaltenen Punkte aus Durchschnitten verschiedener Werte bestehen. (Die Gruppennummern wurden in Spalte 1 der Tabelle 5 bezeichnet, ebenso gültig für die Leber auf Abb. 4). Auf Abb. 3a sind die direkten Werte abgetragen. Wir sehen, daß dieselben Konzentrationen anfangs zu hohen Jodidwerten in der Muskulatur führen. Das Auftreten der Maxima ist nicht abhängig von der Konzentration. Auf Abb. 3b sind entsprechend dem früheren

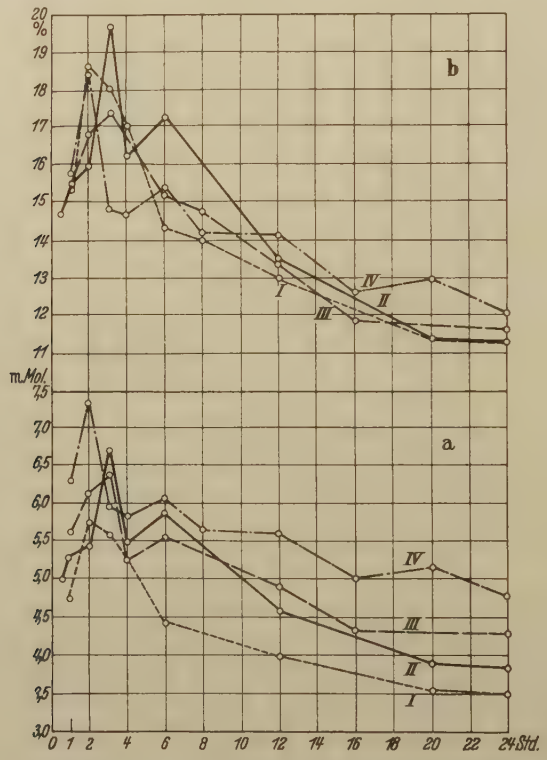


Abb. 3a* und 3b. Die Abszisse gibt die Zeit in Stunden, die Ordinaten bedeuten in Kurve a die Jodidkonzentration im Muskel in Millimol, in Kurve b den Anteil der Jodid zugänglichen Räume in %. Bei jeder der Kurven ist die Jodidkonzentration im Blute festgelegt. Über die Linienzüge I bis IV siehe die Festlegung dieser Werte auf Tabelle 5, Spalte 11.

Verfahren die extracellulären Räume dargestellt. Damit schieben sich die Kurven zusammen. Es zeigt sich, daß der den Anionen zugängliche Raum auch bei den hohen Konzentrationen nicht etwa anwächst, die Muskelfaser also ihre Impermeabilität beibehält. Daß die extracellulären Räume mit fortschreitender Zeit abnehmen (nicht zunehmen) erhärtet unsere Behauptung (entsprechend Netter).

* Diese Kurven wurden auf dem Pharmakologenkongreß 1936 gezeigt (siehe 3).

Anfangs ist eine Beziehung zwischen diesen Räumen und der Höhe der Konzentration nicht nachweisbar. Eine Umkehr sehen wir in der dritten bis vierten Stunde. Entsprechend dem negativen Korrelationskoeffizienten der Tabelle 3 liegt hier der Linienzug IV am niedrigsten usw. Aber gegen Ende der Beobachtungszeit sind die Werte auch der hohen Konzentrationen von Linienzug IV usw. am höchsten. Hier sehen wir also anschaulich die Verhältnisse des Korrelationskoeffizienten dargestellt und damit in den Bereich der neuerlichen Diskussion gestellt.

Das erste Wichtige ist die Tatsache, daß die Wirkung und der Zustand der Muskelfaser kaum abhängig ist von der Konzentration, dagegen von der Zeit. Am Anfang kommt es zu einer Zunahme der Jodidräume, bedingt durch die Faktoren, deren Eintreten wir oben ausführlich diskutierten, nur teilweise entsprechend den Veränderungen nach Reizung. Aber auch hier hatten die Versuche von Tipton [14] gezeigt, daß bei langdauernder Reizung die Zunahme der Chloridräume, die wir einfach als Anionenräume ansehen können, nach Durchlaufen eines Maximums schließlich geringer wird. Aber selbst nach einer Reizdauer von 3 Stunden war der Ausgangswert noch nicht völlig erreicht. Dagegen fand Ghaffar [21] bei starker Ermüdung des isolierten Muskels ein Absinken der extracellulären Räume auf 9%, nachdem sie vorher Werte von 25% betrugen. Das wäre auf die durch die Entstehung von Hypertonie — entsprechend den Befunden von A. V. Hill — entstehende Schwellung der Muskelfasern zurückzuführen. Der in der Abb. 3 dargestellte Ablauf wird auf eine direkte Einwirkung des Jodids zurückzuführen sein und wir werden die zweite Phase der Reaktion, die schon mit der dritten Stunde beginnt, für geeignet halten, die Ausscheidung des Jodids zu begünstigen, wenn sie auch nicht ausreicht, um die Verhältnisse quantitativ zu erklären.

Da Jodid nur von der Oberfläche der Muskelfaser wirken kann, wird der vom Innern auftretende Effekt um so größer sein, je dichter die Oberflächenbesetzung der Muskelfaser ist. In diesen Faktoren ist ein Moment der verschiedenen Giftigkeit der Anionen der Hofmeisterschen Reihe zu suchen. Die Giftigkeit gegenüber den Fröschen entspricht völlig der Stellung in der Quellungsreihe (Eichler [1]). Nun ist der Begriff der Quellung für belebte Systeme außerordentlich anrüchig und sollte vermieden werden (da er durch physikochemische und genau definierte Begriffe besetzt ist). Aber je stärker die Anionen etwa die Gelatinequellung begünstigen oder gar peptisieren, desto stärker reichern sie sich an Oberflächen an, desto stärker sind sie hydrophob. Wenn ich also Rhodanid auf Muskeln gebe, dann wird an der Fasergrenze die Zahl der negativen Ladungen größer sein, als wenn in dem Milieu nur Cl′ sich befindet. Jodid steht zwischen beiden. Je höher die Jodidkonzentration, desto mehr wird die Faser besetzt sein. Eine Vergrößerung der Fläche durch die Schwellung und spärlichere Oberflächenbesetzung wird bei gleichzeitig geringerer Gesamtkonzentration durchaus als Faktor der Entgiftung in Frage kommen, aber

[21] Ghaffar, A.: Quat. J. exper. Physiol. **25**, 241 (1935).

durch die Ausscheidungsbegünstigung ist der gesamte Prozeß bestimmt vorteilhaft beeinflußt. Wir haben diese Verhältnisse unter dem Prinzip von Le Chatelier betrachtet[3], denn das Jodid verursacht Reaktionen, die zu seiner Beseitigung, d. h. Entgiftung, führen.

Diesen Gedanken wollen wir heute nicht verfolgen, sondern nur darauf hinweisen, daß auf Abb. 3b diejenigen Tiere, die die höchsten Konzentrationen von Jodid aufweisen, auch zuletzt die größten extracellulären Räume aufweisen, d. h. die Tiere, die schlecht ausscheiden (sichtbar an der hohen Konzentration), sind auch am wenigsten fähig zu der von uns als zweckmäßig empfundenen Reaktion, nämlich der Verkleinerung der Jodidräume. Damit haben wir wiederum das Hervortreten der in der Einleitung hervorgehobenen Korrelation festgestellt und auch die periphere Grundlage der Beziehung spezifiziert. Wenn die Versuche von Ghaffar in Betracht gezogen werden, wird man in der Fähigkeit, osmotisch aktive Substanz frei zu machen, eine Möglichkeit der Erklärung sehen können. Darunter wäre z. B. die Speicherung von Glykogen wichtig. Glykogen wird aber, wie spätere Versuche noch ausführlicher zeigen werden, gerade in dieser Zeit abgebaut. Es fragt sich nur, welches Endprodukt hierbei auftritt. Dabei braucht aber nicht die Zunahme der Muskelfaser allein maßgeblich zu sein, sondern es kann die Frage der Entwicklung einer Starre auch von Bedeutung sein, denn die erste Methode verbraucht notwendig Wasser, letztere nicht. Jedoch führte Starre nicht zur Verkleinerung der Räume. Darüber werden wir noch zu sprechen haben.

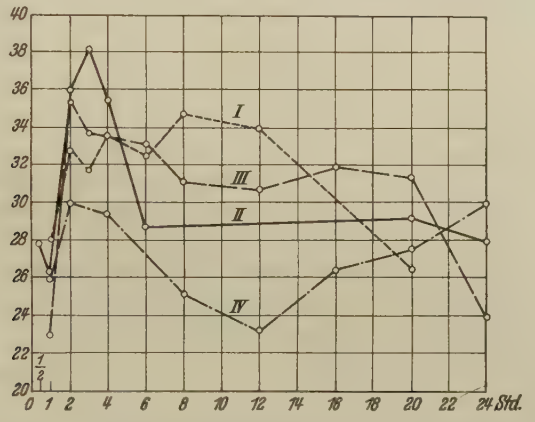
Vorher jedoch soll noch das Verhalten der Leber in derselben Art betrachtet werden. Hier kann eine Tonuszunahme keine Bedeutung haben. Bei Katzen fand sich eine Beziehung der „Chlorid"-Räume der Leber zu deren Ernährung [22, 23]. Bei Ausschüttung von Glykogen (durch Adrenalin) wurden diese Räume größer, ebenso nach Fasten bei Ratten und Kaninchen [24]. Diese Veränderung galt aber nur relativ. Wenn die Gesamtzunahme der Leber an Gewicht nach Fütterung berücksichtigt wurde, dann zeigte sich der absolute Raum im Verhältnis zum Körpergewicht als größer. Bei Dialnarkose an Katzen nahmen die Räume als Prozentsatz gerechnet trotz Glykogenverlust ab.

Unsere Abb. 4 zeigt das Verhalten der extracellulären Räume der Leber in % entsprechend der Abb. 3b beim Muskel. Auch bei diesen Versuchen zeigt sich die Tendenz zur Abnahme der extracellulären Räume nach einer vorübergehenden Steigerung. Der Glykogengehalt nimmt dabei ab. Ein abweichender Verlauf ist auf Linienzug IV, also der höchsten Blutkonzentration, sichtbar. Besonderer Wert ist darauf zu legen, daß gerade die entscheidenden Punkte je durch eine größere Anzahl von Tieren (je 3—4 Tiere) belegt sind.

---

[22] Yannet, H., u. Darrow: J. biol. Chem. (Am.) **123**, 295 (1938). — [23] Snyder, C. D., E. R. Johnson u. C. M. I. Peck: Amer. J. Physiol. **124**, 704 (1938). — [24] Fenn, W. O.: J. biol. Chem. (Am.) **128**, 297 (1939).

Also auch in diesem Organ sind zuletzt diejenigen Tiere, die am wenigsten ausgeschieden haben (ersichtlich aus der Konzentration), zugleich die Tiere, deren Zellen die Ausscheidung nicht begünstigen. Diese Beobachtung steht in einem gewissen Gegensatz zu dem Verhalten der Regressionslinie, was uns deutlich wird, wenn wir den Gesamtverlauf der Kurve ins Auge fassen. Am Anfang sind gerade die extrem hohen Konzentrationen verbunden mit dem geringsten Gehalt der Leber. Das gilt auch für die Blutwerte über 33 mMol, die wir hier wegen ihrer geringen Zahl (siehe Tabelle 5) nicht beachtet haben. Die Gesamtheit der Ursachen dieser Entwicklungen sind uns völlig unbekannt, weil darüber auch sonst bei der Leber nur spärliche Versuche in der Literatur vorliegen. Die Frage, ob hier ein Versagen des Herzens vorliege, ist nicht ohne weiteres zu beantworten, eher negativ, da durch die Anionen das isolierte Froschherz auch



Kurve 4. Verhalten der extracellulären Räume der Leber.
Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: Extracelluläre Räume in %. Die Anordnung entspricht völlig den Verhältnissen auf Kurve 3b. Über die Linienzüge I—IV siehe Tabelle 5, Spalte 11.

in höheren Konzentrationen kaum geschädigt wird [25] und auch bei völlig moribunden Tieren das Herz noch pulsiert [1] (siehe darüber später).

Nur der rein registrierende Hinweis auf Tabelle 4 sei gestattet, nach der zu der Zeit des Anstiegs der extracellulären Räume der Trockengehalt zunimmt und noch stärker der Gehalt an Stickstoff. Wäre das ein Zeichen von Glykogenverlust, ergäbe sich damit eine Analogie zu den eben zitierten Versuchen am Warmblüter.

Vergleich der chemischen Befunde in Muskel und Blut mit dem klinischen Erscheinungsbild.

Uns bleibt jetzt noch als Abschluß der Versuch, bestimmte Befunde vom Muskel, z. B. extrem niedrige oder hohe „Jodid"-Räume, mit dem

[25] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 265 (1929).

Verhalten des Frosches vor der Tötung zu vergleichen. So könnte auch die Neigung zur Starre oder Erregung über eine Erhöhung des Tonus der Muskeln die Räume verkleinern, wie wir es schon erwähnten. Diese Frage ist jetzt anzugehen.

Zuerst ist bei Durchsicht unserer Protokolle deutlich, daß die ersten Symptome einer Vergiftung — denn wir können die einige Minuten dauernde anfängliche Reizwirkung übergehen — 6 Stunden nach der Injektion zu registrieren sind, zunehmend sich verstärkend. Hier sind nun eine Reihe von verschiedenen Vergiftungsbildern zu beobachten. Der Frosch zeigt bei dem typischen Verlauf zuerst Zeichen der Übererregbarkeit mit Neigung zu Steifheit der Muskulatur, also eine Art von Innervationsstarre, ähnlich der Strychninvergiftung, ohne daß diese Wirkung voll erreicht wird. Dafür aber bedarf es nicht der Innervation bei ausgeprägter Vergiftung infolge periphärer muskulärer Wirkung. Diese Steifheit kann so stark werden, daß der Frosch sich nicht oder nur mit größter Schwierigkeit umwenden kann, wenn man ihn auf dem Rücken legt. Aber bei anderen selteneren Fröschen ist keine Spur solcher Entwicklung zu sehen. Sie sind mehr schlaff und können sich aus Kraftlosigkeit nicht umdrehen. Wir werden erwarten, daß diese Frösche eher eine höhere Konzentration im Muskel aufweisen werden, wenn die Höhe des Muskeltonus maßgeblich ist für die Größe der Jodaufnahme in den Räumen, während bei kleinen Räumen die Neigung zur Starre zu finden sein müßte.

Nun zeigt sich, daß eine direkte einfache Beziehung nicht besteht, weil die höchsten Konzentrationen im Blute und die größte Ausdehnung der Interstitialräume in die ersten Stunden fallen, in denen aber keine Krankheitserscheinungen merkbar sind, sondern eher mit dem primären Abfall der Blutkonzentration. Jodid ist also kein Gift, in dem die Konzentration maßgeblich ist, sondern die Giftwirkung ist zeitgebunden. Nach dieser primären Erkenntnis sind wir gezwungen, die Resultate nach dem Zeitpunkt durchzusehen und dann die Frage nach Symptomen und Symptomlosigkeit bei extremen Werten von Jodid im Plasma und Größe der extracellulären Räume zu stellen.

Bevor wir in unserem Vorhaben beginnen, wollen wir noch die beiden toten Frösche, deren Analyse uns gelang, und auch die zahlreichen Frösche herausheben, die Rückenlage vertrugen. Die zwei toten Frösche gruppieren sich in die 12. und 24. Stunde, beide sind starr, die Konzentrationen im Plasma mit 42,8 und 40 mMol liegen weit über der durchschnittlichen, während die extracellulären Räume, trotz der Starre, mit 18 und 28,2% (!) zu den größten überhaupt beobachteten gehören. Schon diese Analysen zeigen erstens, daß Starre nicht unbedingt mit kleinen Räumen zusammengehört bzw. die hohen Konzentrationen mit Tonusabnahme. Man wird fragen, ob hier vielleicht die Muskelfaser durchgängig geworden ist. Das könnten erstens nur einzelne Fasern sein und dann müßte die Durchgängigkeit schon während des Lebens eingetreten sein, da die nachträgliche

Durchgängigkeit bei stillstehendem Blutkreislauf an der Analyse nichts mehr ändern kann. Die Höhe des Blutspiegels zeigt aber auch wiederum, daß die empfindlichen Frösche zugleich nur schlecht das angebotene Jodid auszuscheiden vermögen, also wiederum eine Vermehrung unserer vielfachen Hinweise.

Wenn wir jetzt eine zweite Gruppe von Tieren herausziehen, nämlich sechs Tiere, die auf die Dauer Rückenlage vertrugen, dann findet sich in einem Punkte dasselbe Bild, nämlich in der Konzentration des Blutes. Die Tiere gehören zu folgenden Gruppen: je ein Tier bei 12, 16 und 24, drei Tiere zur 20. Stunde, in jedem Falle liegen die Plasmakonzentrationen weit über den Durchschnittswerten, als Zeichen für die schlechte Ausscheidungsfähigkeit dieser Tiere. Die Muskelräume verhalten sich aber verschieden, nur dreimal liegen sie über dem Durchschnitt ihrer Gruppe, zweimal darunter und einmal gerade darauf. Die Gruppe sei hier auf Tabelle 6 kurz zusammengefaßt.

Tabelle 6.

Zeit	Schreckstarre?	Plasma mMol	Muskelräume in %
12	Nein	38,8	12,8
16	Sehr deutlich	46,0	10,4
20	Sehr schreckhaft	37,1	13,6
	Nicht ausgesprochen, schreckempfindlich	40,7	14,4
	Ausgesprochen	45,0	12,9
24	Ausgesprochen, Zuckungen	40,0	11,3

In einer weiteren Gruppe haben wir die Tiere zusammengefaßt, die fast Rückenlage vertragen, d. h. denen es zwar gelingt, sich spontan umzudrehen, aber erst nach einer gewissen Zeit oder auf Reiz. Zu dieser Gruppe gehören 13 Tiere, von ihnen wiederum 5, bei denen sowohl die Konzentrationen im Blute, als auch die Muskelräume den Durchschnitt übertreffen. In dieser Gruppe befinden sich die Tiere, bei denen Starre oder Steifheit am deutlichsten hervortritt, nur ein Tier ist schlaff. In einer zweiten Gruppe (drei Tiere) mit überdurchschnittlichen Plasmawerten, aber unterdurchschnittlichen Muskelräumen, war je ein Tier mit guter und angedeuteter Steifheit, eins war schlaff. Zwei Tiere mit Konzentration unterhalb, Räume oberhalb des Durchschnitts, zeigten Schreckhaftigkeit bzw. Andeutung von Steifheit, ebenso drei Tiere, deren Konzentration und Muskelräume sich unterhalb des Durchschnitts befanden. Im ganzen existierten acht Tiere, deren Konzentrationen über dem Durchschnitt lagen. Die Tiere mit deutlichem Zeichen von Steifheit und Starre fanden sich alle unter ihnen und die meisten zugleich mit überdurchschnittlichen Muskelräumen. Also diese Beziehung, die in den ersten beiden Gruppen dominierte, ist hier auch nachweislich, aber nicht mit gleicher Ausschließlichkeit. Man wird vielleicht annehmen können, daß die drei Tiere, die die

hier betrachteten Wertepaare unterhalb des Durchschnittes aufwiesen, schon das Maximum ihrer Erkrankung hinter sich hatten, weil sie zu der letzten Versuchszeit gehören.

Wir kommen jetzt noch dazu, die einzelnen Versuchszeiten in ähnlicher Weise wie hier unter Berücksichtigung der „gesunden" Tiere durchzusehen, unter Umgehung der bisher schon erwähnten. Gewisse Prinzipien lassen sich hier nun herausstellen, ohne daß die Zeiten eine Änderung erkennen lassen. 19 Tiere zeichneten sich dadurch aus, daß sie sowohl in der Jodidkonzentration im Plasma, als auch in der Größe der extracellulären Räume unterdurchschnittliche Werte aufwiesen. Von diesen konnte man 18 Tiere zu den gesunden rechnen. Nur 6 Tiere von diesen zeigten vielleicht Andeutungen einer leichten Übererregbarkeit mit gerade angedeuteter Erschwerung der Erschlaffung nach der Kontraktion, die anderen 12 zeigten überhaupt keine merkbaren krankhaften Symptome. Nur 1 Tier mit deutlicher Starre war in dieser Gruppe vorhanden. Zu diesen kommen noch die Tiere, die wir vorher schon als Rückenlage vertragend gerechnet haben.

Betrachten wir diejenigen Frösche, die große extracelluläre Räume in der Muskulatur besitzen bei gleichzeitiger hoher Plasmakonzentration, dann können wir eine wichtige Veränderung mit der Zeit beobachten. In dieser Gruppe befinden sich 10 Tiere, darunter 5 gesunde und ebensoviel, deren Erkrankung deutlich ist. Wir finden aber von ersteren 4 völlig gesunde nach 6 Stunden, also am Anfang, und 1 mit Andeutung der Erkrankung nach 12 Stunden, während der Rest in der 16.—24. Stunde nur unter die Gruppe der deutlich Kranken zu zählen sind. Wir können im gesamten auch hier wiederum schließen, daß diejenigen Frösche, die gut ausscheiden, sich auch durch eine geringe Empfindlichkeit auszeichnen. Parallel geht auch die Begünstigung der Ausscheidung durch das Verhalten der Zelle, ohne daß eine Beziehung zu einer Starre oder Tonuszunahme besteht (s. auch [26]). Die Reaktion der Muskelzelle, der wir wohl die vorwiegende Bedeutung zuschreiben müssen — entsprechend den Befunden von Ghaffar (s. oben) —, wird durch Jodid also hier besonders leicht in Gang gebracht, oder wenn wir in der Entwicklung von osmotischem Druck diese Funktion der Zelle sehen, werden die Reserven dazu (Glykogen) besonders groß angenommen werden müssen.

Das ist auch noch bei einer weiteren Analyse unserer Zahlen sichtbar. Wir haben jetzt diejenigen Frösche ausgesucht, bei denen die Plasmakonzentration extrem hoch war (mehr als die Streuung über dem Durchschnitt), und die trotzdem gesund waren oder die nur geringe Andeutungen einer Jodidwirkung erkennen ließen. Zehn Tiere dieser Art wurden gefunden. Alle, ausgenommen ein Tier, zeigten zugleich extracelluläre Räume unter dem Durchschnitt. In der letzten Stunde gab es in diesen

[26] Eggleton, M. G.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 465 (1937).

Gruppen keine „gesunden" mehr. Ebenso waren die Tiere mit extrem kleinen Räumen gut im Stande, zuletzt mit geringer Steifheit.

Diese Umkehrung zeigte nochmals die Bedeutung der Muskelreaktion für die Empfindlichkeit der Frösche gegenüber der vielleicht auftretenden Vermutung, daß letzten Endes die Resultate ausschließlich von dem Vermögen der Nieren zur Ausscheidung abhängen, also entgegen dem Versuch, wenn schon nicht vom Muskel, so doch von der Niere her die Gesamtheit der Phänomene zu erklären.

Das Verhalten der Räume der Leber wurde nicht näher versucht, weil eine Korrelation zum Gehalt des Muskels nicht besteht, oder nur sehr locker ist. Bei den beiden toten Tieren wurden auch hier besonders hohe Werte merkbar, ebenso war das deutlich vielfach bei den Tieren mit Rückenlage, aber durchaus nicht immer. Trotzdem ist es auffällig, daß bei den Tieren, die gesund sind, und deren Jodidräume und Plasmakonzentration unterhalb des Durchschnitts liegen, die Leberwerte bis auf ein Tier auch alle unterhalb des Durchschnitts sind.

Diskussion.

Wir haben den Ablauf der Vergiftungserscheinungen nach Jodid in verschiedener Hinsicht verfolgt. Davon ist besonders das Verhalten der Muskelräume einer besonderen Besprechung bedürftig, und zwar wegen der Auffassung über seinen Verlauf. Diese Räume nehmen in der ersten halben Stunde zu. Als Ursache wurde die anfängliche Aufregung in Betracht gezogen mit ihren Bewegungen. Aber schon diese Störung erschien nicht nur dem Betrage nach geringfügig, sondern auch weil sich hinsichtlich Wassergehalt bzw. Trockengehalt und Gehalt an Stickstoff keine Parallelität zu den in der Literatur nach Bewegungen beschriebenen Veränderungen auffinden ließ. Also sind schon die anfänglichen Veränderungen vorwiegend dem Jodion zuzuschreiben, und zwar zumal die nächsten Stunden eine langsame Entwicklung in derselben Richtung brachten. Diese Effekt kann nicht in einem zentralen Angriff gesucht werden, weil eben die am Muskel gefundenen Erscheinungen nicht mit den Folgezuständen einer zentralen Reizung über die Bewegung übereinstimmen. Dann aber machte sich die entgegengesetzte Tendenz — nämlich Abnahme dieser Räume — geltend, die etwa bis zu 16—24 Stunden im Durchschnitt zu den normalen Muskelräumen führte. Der Zustand des Muskels ist nun funktionell geändert, trotz der gleichen Größe der extracellulären Räume. Jedoch zeigten sich diejenigen Tiere, deren Räume klein wurden, vorwiegend weniger zugänglich der Vergiftung.

Hier erhebt sich die wichtige Frage, ob man einfach von der einsetzenden Restitution sprechen könne, da gerade bei den Tieren mit guter Restitution auch die Ausscheidung sich als besonders günstig erwies. Durch Beseitigung des Jodids wäre die Möglichkeit der Restitution gegeben. Diese Auffassung würde die Dinge nur oberflächlich nehmen, denn die

Restitution setzte ein, während die Konzentration noch hoch war und während die Frösche noch gar keine Krankheitszeichen merken ließen. Wir sind zu der Annahme einer zweiphasischen Wirkung des Jodids an die Muskelfaser gezwungen. Die zweite mit der Verengerung der Räume muß als eine von Jodid induzierte Phase aufgefaßt werden, denn der Zwang zur Regulation gehört auch zur Wirkung des Jodids, entsprechend dem Prinzip von Le Chatelier. Eine Vergrößerung des interstitiellen Raumes allein ist noch kein krankhaftes Zeichen.

Nun könnte man geltend machen, daß diese Regulation durch Jodid selbst gehemmt wird, indem nämlich diejenigen Frösche, die in der Zeit der zweiten regulativen Phase hohe extracelluläre Räume haben, auch häufig höhere Jodzahlen aufweisen, so daß also in Wirklichkeit die mangelhafte Ausscheidungsfähigkeit das Hypomochlion ist, um das sich alles dreht. Die mangelhafte Ausscheidung wäre aber nicht etwa zu erklären mit einer Nierenfunktion, sondern mit einem mangelhaften Kreislauf, der schon die Resorption aus dem Bauchlymphsack erschwere.

Gegen diese Auffassung spricht die mangelhafte Korrelation zwischen der Konzentration von Blut und Leber — und zwar sowohl hinsichtlich der Konzentration direkt, als auch der errechneten, Jodid zugänglichen Leberräume. Durch Rückstauung dürfte sich gerade hier ein Versagen des Kreislaufs bemerkbar machen. Außerdem spricht dagegen auch die einfach nicht zu übersehende Tatsache, daß die Frösche selbst in der sechsten Stunde noch mobil sind und keine Krankheitszeichen wahrnehmen lassen. Das ist mit einem mangelhaften Kreislauf um so weniger vereinbar, als frühere ausgiebige Versuche dargetan haben, daß die Zeit der Resorption schon nach der Hälfte der Zeit abgeschlossen ist. Die Resorptionsgeschwindigkeiten der halben Dosis bzw. die Konzentrationsveränderungen zeigen auch quantitativ denselben Verlauf (s. Tabelle 2 im Vergleich mit 1 bzw. 3 mit den gesamten lösenden Räumen). Wir werden also den Verlauf der einen supponierten einphasischen Kurve der Abb. 1 als unwahrscheinlich ablehnen und die Blutkonzentration auch zweiphasisch verlaufen lassen.

Für eine Unabhängigkeit der Ausscheidung und der Vorgänge in der Muskulatur spricht aber die Gruppe von Tieren, die auch in der zweiten Phase hohe Konzentrationen im Blute aufweisen, bei kleinen Muskelräumen und gutem Allgemeinbefinden. Wenn man jetzt sagen würde, daß die Frösche neben größeren Reservekräften, z. B. an Glykogen in der Muskulatur auch natürlich besser funktionierende Nieren haben müßten, daß also nur allgemeine Urteile gegeben zu werden brauchten, dann werde ich selbstverständlich dieser Meinung zustimmen, aber darin erst den Anfang des Problems sehen, das — wie ich glaube — wenigstens hinsichtlich der Präzisierung der Fragestellung gefördert wurde. Die sonstigen Beziehungen (Leber, Korrelationen, Regressionslinien) sind im Text diskutiert und bedürfen nicht einer wiederholten Besprechung.

Zusammenfassung.

Es wird versucht, aus dem Ablauf der Konzentrationen in Blut, Muskel und Leber nach Gaben von Jodid an Fröschen Einsicht in die pharmakologische Wirkung zu gewinnen und Schlüsse auf Gesetzmäßigkeit der Empfindlichkeit zu ziehen.

Es zeigt sich, daß die Jodidwirkung nicht abhängig ist allein von der Konzentration im Blute, sondern ganz wesentlich von der Zeit. Sie verläuft zweiphasisch:

Zuerst kommt es zu einer Vermehrung der extracellulären Phase des Muskels, ebenso der Leber. Diese ist verbunden mit Verlust von Wasser in diesen Organen und Zunahme des Stickstoffgehaltes. Dieser entspricht der Zunahme des Trockengehaltes in dem Muskel, ist aber größer in der Leber, vielleicht bedingt durch Glykogenverlust.

In einer zweiten Wirkungsphase kommt es zu einer regulativen Verminderung der extracellulären Räume, besonders systematisch in der Muskulatur. In dieser Periode erfolgt die Erkrankung der Tiere, aber je weniger diese Regulation erfolgt, desto eher zeigt der Frosch die Tendenz zu Krankheitssymptomen. Die starren Frösche haben große extracelluläre Räume in der Muskulatur. Zugleich zeigt sich, daß dabei die Ausscheidung des Jodids geringer ist. Beide Vorgänge: Güte der Ausscheidung und Empfindlichkeit der Frösche müssen als gekoppelte Eigenschaften angesehen werden.

Durch die Verengerung der extracellulären Räume der Organe kommt es zu einer aktiven Begünstigung der Jodidausscheidung durch die Peripherie, ohne daß aber der Effekt zur quantitativen Erklärung der Erscheinungen hinreicht. (Beim Warmblüter mit den nur halb so großen extracellulären Räumen würde der auftretende Effekt doppelt so groß sein.) Die gemeinsame Ursache dieser Koppelung ist noch nicht bekannt.

Einige Versuche beschäftigen sich mit der Lokalisation des Jodidions in Muskulatur und Leber.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Zur Methodik des Nachweises der zentralanaleptischen Blutdrucksteigerung.

Von

Fritz Hahn.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1941.)

Der Nachweis der blutdrucksteigernden Wirkung der zentralen Analeptica gelingt bekanntlich nicht mit der gleichen Leichtigkeit, wie es bei peripher wirkenden Mitteln der Fall ist. Zwar ist, abgesehen vielleicht vom Campher, für die gebräuchlichen Analeptica die in Frage stehende Wirksamkeit einwandfrei erwiesen. Aber die Ergebnisse sind doch bei den einzelnen Untersuchern quantitativ verschieden ausgefallen. Es fehlt auch nicht an Befunden, die negativ sind oder sogar eine blutdrucksenkende Wirkung der Analeptica dartun (z. B. betreffend Cardiazol: Camp[1], Watt[2], Barker und Levine[3], David und Vareed[4]). Es kommt offenbar den Versuchsbedingungen eine große Bedeutung zu. Daher ist es verständlich, daß die Frage, wie die pharmakologische Erregung des Vasomotorenzentrums möglichst deutlich zur Darstellung gebracht werden kann, verschiedentlich die Autoren beschäftigt hat (vgl. z. B. die ziemlich ausführlichen Untersuchungen von Junkmann und Stross[5], ferner Stross[6]).

Drei Momente spielen bei den Erörterungen über diese Frage die Hauptrolle: die Erregbarkeit des Vasomotorenzentrums, der Gefäßtonus und die Gegenregulationen des Kreislaufs. Doch sieht man in den Veröffentlichungen der einzelnen Autoren bald den einen, bald den anderen Faktor mehr in den Vordergrund gestellt. Van Elsveld[7] hat vor allem die Intaktheit des Vasomotorenzentrums, d. h. Vermeidung von Narkoticis gefordert und daher an decerebrierten Tieren gearbeitet — ausgehend von dem bekannten Antagonismus, der zwischen Narkoticum und Analepticum besteht. Er erhielt in der Tat auffallend gute Blutdruckeffekte. Gremels[8] verwendete auf Grund derselben Gesichtspunkte die vornehmlich als Rindennarkoticum wirkende Chloralose.

[1] Camp, W. J. R.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 81 (1928). — [2] Watt, J. M.: Arch. internat. Pharmacodynam. **36**, 225 (1929). — [3] Barker, M. H., u. S. A. Levine: Arch. int. Med. (Am.) **42**, 14 (1928). — [4] David, J. Ch., u. C. Vareed: Indian. J. med. Res. **16**, 920 (1929). — [5] Junkmann, K., u. W. Stross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **131**, 1 (1928). — [6] Stross, W.: Ebenda **131**, 18 (1928). — [7] van Elsveld, L. W.: Ebenda **149**, 348 (1930). — [8] Gremels, H.: Ebenda **153**, 36 (1930).

Andererseits wurde mehrfach festgestellt, daß die Blutdruckwirkungen der Analeptica deutlicher werden, wenn durch Narkose eine Senkung des Blutdrucks herbeigeführt wird (Junkmann und Stross[5], E. A. Müller[9], Flaum[10], Palme[11]). Diese Befunde sind an sich verständlich, wenn man an die Bedeutung denkt, die ein erniedrigter Gefäßtonus, auf dessen Bedeutung auch Gremels hinweist, für das Zustandekommen pressorischer Wirkungsbilder hat. Aber sie stehen in Widerspruch mit der Feststellung, daß Intaktheit des Vasomotorenzentrums die günstigste Bedingung für den Nachweis zentral-analeptischer Blutdruckwirkungen darstelle.

Wie verhält sich aber die Wirkung der Analeptica, wenn die Blutdrucksenkung ohne Schädigung des Vasomotorenzentrums, d. h. durch peripher angreifende Maßnahmen herbeigeführt wird? Kreislaufschäden durch Histamin wurden durch zentrale Analeptica (Cardiazol) teils schlecht oder gar nicht (Eichler und Hildebrandt[12], Gremels[8], Goworow und Speranskaja-Stepanowa[13]), teils deutlich (Palme[11], Wahren[14]) beeinflußt. Blutdrucksenkungen durch Papaverin (Flaum[10]) und und Acetylcholin (Oettel[15]) ließen sich gut durch Cardiazol ausgleichen. Bei Kreislaufkollapsen durch Aderlaß wurde teils keine (Eichler und Hildebrandt[12], Barker und Levine[3]), teils günstige Wirkung des Cardiazols (Goworow und Speranskaja-Stepanowa[13], Flaum[10]) gesehen. Die Befunde sind also widersprechend, was vielleicht damit zusammenhängt, daß es sich bei den Versuchen der einzelnen Autoren um verschiedene Grade der Kreislaufschädigung gehandelt hat. Aber auch die Arbeiten, die über gute Wirkungen der Analeptica bei peripher bedingten Kreislaufschäden berichten, liefern uns kein eindeutiges Material zur Beantwortung der Frage, die wir hier zu behandeln haben: ob nämlich durch peripher bedingte Kreislaufschäden bestimmter Art und Stärke die blutdrucksteigernde Wirkung zentraler Analeptica deutlicher sichtbar gemacht werden kann. Nur die Angabe von Haffner, Schellong und Baetzner[16], daß die Blutdruckwirkung des Neospirans in ihren Versuchen deutlicher zur Ausdruck kam, wenn der Blutdruck durch Natriumnitrit oder arsenigsaures Kalium gesenkt war, kann hier vielleicht angeführt werden, sofern man die Wirkung dieser Stoffe als hauptsächlich peripher bedingt ansieht.

Auf die Bedeutung der Blutdruckzügler ist erst relativ spät, und zwar von Palme[11] hingewiesen worden. Nur Stross[6] hatte sich schon vorher mit dieser Frage beschäftigt, aber merkwürdigerweise keine eindeutigen Einflüsse der Pressoreceptoren auf die Wirkung der Analeptica gesehen. Nach Palme[11] erklärt sich das häufige Versagen der Analeptica im Tier-

[9] Müller, E. A.: Klin. Wschr. **1936**, S. 233. — [10] Flaum, B.: Ebenda **1935**, S. 1543. — [11] Palme, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 170 (1936). — [12] Eichler, O., u. F. Hildebrandt: Ebenda **116**, 110 (1926). — [13] Goworow, N., u. E. Speranskaja-Stepanowa: Z. exper. Med. **79**, 517 (1931). — [14] Wahren, H.: Ebenda **99**, 306 (1936). — [15] Oettel, H.: Cardiazol-Film. — [16] Haffner, F., F. Schellong u. W. Baetzner: Med. Klin. **1935**, S. 1561.

experiment dadurch, daß alle Untersucher ohne Ausschaltung der Pressoreceptoren gearbeitet haben. Für die Versuche van Elsvelds [7] an decerebrierten Katzen trifft dies aber nicht zu, da bei der Decerebrierung durch Vagotomie und Carotisunterbindung eine Ausschaltung der Pressoreceptoren herbeigeführt wird. Tatsächlich hat aber auch van Elsveld, wie ein Vergleich aller Arbeiten in der Literatur erkennen läßt, die besten Resultate erhalten. Van Elsveld selbst hat dieses Moment nicht weiter berücksichtigt. Was nun den von ihm in den Vordergrund gestellten ungünstigen Einfluß der Narkose betrifft, so ist nach Palme auch nach Ausschaltung der Pressoreceptoren durch Zusatznarkose eine weitere Verstärkung der Blutdruckwirkung der Analeptica zu erzielen. Abgesehen von den Versuchen Palmes an Hunden und denjenigen van Elsvelds an decerebrierten Katzen ist bisher von der Ausschaltung der Pressoreceptoren zum Nachweis zentralanaleptischer Blutdruckwirkung meines Wissens kein Gebrauch gemacht worden.

In den Versuchen van Elsvelds könnte noch ein weiterer Umstand von Bedeutung sein. Es besteht nämlich die Möglichkeit, daß durch die Decerebrierung Bedingungen geschaffen werden, die eine Erregung des Vasomotorenzentrums leichter eintreten lassen. Doch ist hierüber nichts Sicheres zu sagen. Befunde, die in diese Richtung zielen, sind die Angaben von Bijlsma [17] über Campherwirkung und von Stross [6] über Coffeinwirkung auf den Blutdruck. Beide Autoren sahen die blutdrucksteigernde Wirkung dieser Stoffe nur nach Decerebrierung in Erscheinung treten.

Unter den Faktoren, die an dem Zustandekommen eines Blutdruckeffektes durch Analeptica beteiligt sind, sind auch die Krämpfe zu erwähnen. Im allgemeinen schreibt man den Krämpfen eine besondere den Blutdruck erhöhende Wirkung zu, die durch Rückflußförderung zustande kommt (Gollwitzer-Meier [18]). Die Angaben über den Abstand von blutdrucksteigernder und krampfmachender Dosis sind auch für ein- und dasselbe Analepticum nicht einheitlich (betreffend Cardiazol vgl. z. B. Gremels [8] und Stross [6]). Doch liegen hierüber noch wenige Untersuchungen vor.

Schließlich muß auch auf die Blutdrucksenkungen eingegangen werden, die einige Autoren beobachtet haben. Soweit es das Cardiazol betrifft, macht Hildebrandt [19] Vagusreize dafür verantwortlich und fordert daher Vagotomie zur Ausschaltung dieser Wirkungen. Bei anderen Analepticis scheinen auch durch periphere Angriffspunkte Blutdrucksenkungen bedingt zu sein. Doch soll hierauf an anderer Stelle eingegangen werden.

So sind eine Reihe von Faktoren zu berücksichtigen, die die pressorische Blutdruckwirkung der Analeptica begünstigen oder verschleiern können. Es

[17] Bijlsma, U. G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **115**, 263 (1926). — [18] Gollwitzer-Meier, Kl.: Klin. Wschr. **1936**, S. 508. — [19] Hildebrandt, F.: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, **5**, 151 (1937).

bestehen aber noch manche Widersprüche in der Literatur, und nur sehr wenig ist bisher der Einfluß irgendeines der hier angeführten Faktoren auf die Wirkung der Analeptica wirklich exakt zur Darstellung gebracht worden. Das kann nur in der Weise geschehen, daß die Wirkung eines Analepticums vor, während und nach Einwirkung des zu untersuchenden Eingriffs oder Vorgangs (Narkose, Ausschaltung der Pressoreceptoren, Aderlaß, Zufuhr blutdrucksenkender Stoffe, Decerebrierung, Krämpfe usw.) an ein und demselben Tier bestimmt wird. Schlüsse von Tier zu Tier haben gerade bei den Analepticis mit ihrer so unsicheren Blutdruckwirkung nur sehr geringen Wert. Für die Feststellung der Beziehungen zwischen Wirkung der Analeptica und Kreislaufschädigungen zentraler und peripherer Art käme es noch besonders darauf an, möglichst verschiedene Grade der Kreislaufschädigung zu berücksichtigen.

Die hier aufgezeigte Lücke auszufüllen, ist das Ziel der folgenden Mitteilung. Wir haben diese Untersuchungen durchgeführt, weil wir aus eigener Anschauung ein Bild über die optimalen Bedingungen des Nachweises zentralbedingter Blutdrucksteigerungen gewinnen wollten, bevor wir an weitere Untersuchungen über die Kreislaufwirkung der Analeptica herangingen.

Wir führten diese Versuche mit Cardiazol durch. Die Wirkung dieses Stoffes ist flüchtig und gestattet daher wiederholte Prüfung am gleichen Tier bei Einhaltung geeigneter Pausen. Wir haben bei Verwendung von 3—5 mg/kg Cardiazol mindestens 20—25 Minuten bis zur nächsten Injektion gewartet und dabei keine kumulativen Wirkungen gesehen.

Die Versuche wurden an Katzen vorgenommen. Blutdruckregistrierung mit dem Hg-Manometer von der Art. femoralis aus unter Verwendung der Trendelenburgschen Apparatur zur Verhinderung der Blutgerinnung. Injektion des Analepticums mit gleichbleibender Geschwindigkeit in die Vena saphena. Künstliche Atmung.

Blutdruckwirkung des Cardiazols vor Ausschaltung der Pressoreceptoren mit besonderer Berücksichtigung der Narkose.

Um die Untersuchungen mit möglichst wenig geschädigtem Vasomotorenzentrum beginnen zu können, wurde nach dem Vorschlag von Gremels Chloralose zum Narkotisieren der Katzen angewendet, und zwar in geringer Dosierung (50—60 mg/kg)*. Bei einer solchen Narkose ist der Blutdruck nicht erniedrigt, sondern manchmal sogar auffallend hoch (150—160 mm Hg oder darüber). Gaben wir nun Cardiazol in Dosen, die den therapeutischen nahestehen und noch keine Krämpfe machten (bis 5 mg/kg), so konnten wir keine nennenswerte Wirkung auf den Blutdruck feststellen. Er stieg entweder überhaupt nicht oder nur um wenige Milli-

* Die Chloralose war 5%ig in 25%igem Urethan heiß gelöst.

meter an. Wurde aber der Blutdruck durch zusätzliche Narkose etwas gesenkt, wozu wir Chloralose, Pernocton oder Chloralhydrat verwendeten, so waren deutliche Blutdrucksteigerungen zu erzielen, z. B. in einem Versuch schon nach 1,5 mg/kg Cardiazol eine Blutdrucksteigerung um 36 mm Hg. Wenn die Narkose aber zu weit getrieben wurde, so daß der Blutdruck unter 80—100 mm Hg absank, so wurde die Wirkung einer gleichbleibenden Cardiazoldosis wieder abgeschwächt oder aufgehoben.

Krämpfe können bei leichter Chloralosenarkose schon nach etwa 6—7 mg/kg Cardiazol auftreten. Dem steht beim nicht narkotisierten Tier nach unseren Ermittelungen eine minimale Krampfdosis von 11 mg/kg bei rascher intravenöser Injektion gegenüber. Auf eine erhöhte Krampfneigung in Chloralosenarkose hat schon Gremels[8] aufmerksam gemacht. Jedoch werden bei Vertiefung der Chloralosenarkose die Krampfdosen des Cardiazols wieder erhöht.

Wenn bei oberflächlicher Narkose krampfmachende Cardiazoldosen gegeben wurden, so konnte auch dann noch die blutdrucksteigernde Wirkung des Cardiazols gering sein oder fehlen. Mit bemerkenswerter Häufigkeit bemerkten wir aber im Zusammenhang mit den Krämpfen sogar das Auftreten von Blutdrucksenkungen. Wurde durch zusätzliche Narkose die Krampfneigung wieder herabgesetzt und der Blutdruck gesenkt, so hörten mit den Krämpfen auch die Blutdrucksenkungen wieder auf. Die gleichen Cardiazoldosen hatten jetzt eine deutlich blutdrucksteigernde Wirkung.

Aus diesen Befunden geht u. a. auch hervor, daß der Abstand zwischen blutdrucksteigernder und krampfmachender Dosis durch die Narkose eine Verbreiterung erfährt. So traten in einem Versuch nach 8 mg/kg Cardiazol Krämpfe ohne Blutdrucksteigerung auf. Nach Senkung des Blutdrucks um fast 40 mm Hg durch Pernocton führte die gleiche Cardiazoldosis zu einer Blutdruckerhöhung ohne Krämpfe. Diese war allerdings nur gering. Aber durch weitere, rasch aufeinanderfolgende Gaben von Cardiazol konnte der Blutdruck mit einer Gesamtdosis von 70 mg/kg bis zur Ausgangshöhe zurückgebracht werden, ohne daß Krämpfe auftraten.

In einem Versuch beobachteten wir auch das Auftreten von Blutdrucksenkungen nach Cardiazol ohne gleichzeitige Krämpfe. Nach Vagusdurchschneidung waren diese Blutdrucksenkungen nicht mehr auszulösen.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß leichte Chloralosenarkose, die das Vasomotorenzentrum nicht nachweisbar schädigt, seinen Erregungszustand vielleicht sogar gelegentlich, wie aus dem hohen Blutdruck hervorgeht, erhöhen kann, keine günstige Bedingung zum Nachweis einer blutdrucksteigernden Cardiazolwirkung darstellt.

Einfluß der Pressoreceptoren auf die Blutdruckwirkung des Cardiazols.

Das Fehlen sinnfälliger Cardiazolwirkung auf den Blutdruck bei normalen Kreislaufverhältnissen wird man in erster Linie mit der Funktion der Pressoreceptoren in Zusammenhang bringen (Palme[11]). Wie groß

der hemmende Einfluß der Gegenregulationen des Kreislaufs sein kann, darüber soll Abb. 1 berichten. Bei leicht vertiefter Chloralosenarkose (90 mg/kg) trat schon vor Ausschaltung der Pressoreceptoren eine Blutdrucksteigerung auf, die etwa 15 mm Hg beträgt (Teil *A* der Abb. 1). Danach wurde die Funktion der Pressoreceptoren durch Vagotomie und Abklemmung der Carotiden ausgeschaltet. Wie Teil *B* der Abb. 1 erkennen läßt, steigt nach diesem Eingriff der Blutdruck unter der Wirkung der gleichen Cardiazoldosis um etwa 55 mm Hg, also um das mehr als $3^1/_2$fache an. Dieser Unterschied ist um so mehr zu bewerten, als der größere Blutdruckeffekt nach Ausschaltung der Pressoreceptoren trotz Erhöhung des

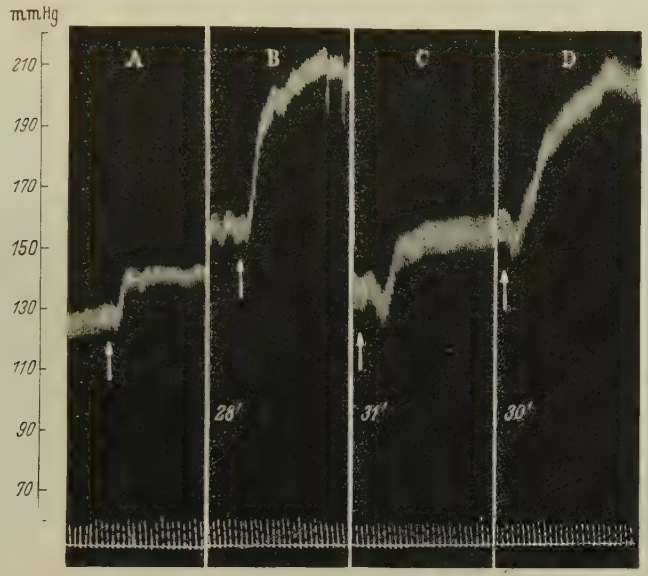


Abb. 1. Katze 2,25 kg, ♂. 90 mg/kg Chloralose. Künstliche Atmung. Bei ▲ 4,5 mg/kg Cardiazol. Zeit in 10 Sekunden. Minutenangaben zwischen den Abschnitten = Versuchspausen. Erklärung im Text.

Ausgangsblutdrucks zustande gekommen ist. Nach Wiederöffnen der Carotiden (Teil *C* der Abb. 1) war wiederum nur ein geringer Cardiazoleffekt zu verzeichnen. Erneuter Verschluß der Carotiden brachte die Wirksamkeit des Cardiazols wieder auf den gleichen Stand wie nach der erstmaligen Ausschaltung der Pressoreceptoren (Teil *D* der Abb. 1). Vagotomie allein ohne Abklemmung der Carotiden ist also wirkungslos. Ebenso erwies sich Abklemmung der Carotiden ohne Durchtrennung der Vagi als wirkungslos.

Wichtig ist aber, daß der Unterschied in der Wirkung des Cardiazols vor und nach Ausschaltung der Pressoreceptoren nicht immer so deutlich zutage tritt. Man kann das zwanglos damit erklären, daß nach Ausschaltung der Pressoreceptoren der Blutdruck erhöht ist, wodurch wiederum

der Nachweis der pressorischen Cardiazolwirkung eine Erschwerung erfahren muß. So wird denn auch verständlich, daß eine bei leichter Chloralosenarkose vor Ausschaltung der Pressoreceptoren nicht in Erscheinung tretende Cardiazolwirkung auch nach Ausschaltung der Pressoreceptoren noch nicht sichtbar zu werden braucht, wovon im nächsten Abschnitt noch die Rede sein wird.

Vielleicht hängt damit auch zusammen, daß Stross bei der Untersuchung der Frage, welche Bedeutung die Pressoreceptoren für die Blutdruckwirkung der Analeptica haben, negative Ergebnisse hatte. Doch dürften seine Ergebnisse auch auf die Unbrauchbarkeit statistischer Vergleiche von an verschiedenen Tieren gemachten Erhebungen zurückzuführen sein. An der Bedeutung der Ausschaltung der Pressoreceptoren für den Nachweis der Cardiazolwirkung kann nicht gezweifelt werden. Nur ist eben nach unseren Erfahrungen die mit Ausschaltung der Pressoreceptoren einhergehende Änderung des Gefäßtonus als ungünstiges Moment mit in Rechnung zu stellen.

Wirkung der Narkose nach Ausschaltung der Pressoreceptoren.

Die Frage, die neben der Rolle der Pressoreceptoren von Bedeutung ist, ist die, ob man Narkose anwenden soll oder nicht. Verneint man diese Frage, so müssen Untersuchungen an decerebrierten Katzen das Optimum darstellen (van Elsveld[7]). Denn wir haben hierbei zwei Vorteile: gut erregbares Vasomotorenzentrum und bei der üblichen Technik der Decerebrierung Wegfall der Pressoreceptoren. Mit größter Annäherung müssen aber ähnliche Bedingungen auch herzustellen sein, wenn man in Versuchen mit nicht decerebrierten Tieren eine ganz leichte Chloralosenarkose verwendet und gleichzeitig die Pressoreceptoren ausschaltet. Auf dieser Basis müßte es möglich sein, ähnliche Resultate zu erhalten, wie sie von van Elsveld für decerebrierte Katzen mitgeteilt hat.

Unsere Erfahrungen hierüber ergaben folgendes. Bei leichter Chloralosenarkose (50—60 mg/kg) ist Cardiazol nach Ausschaltung der Pressoreceptoren zwar meist deutlich blutdrucksteigernd wirksam. Aber man kann dabei auch gelegentlich völlig negative Ergebnisse haben mit Dosen, die nicht krampfmachend sind. Nun ist unter den angegebenen Bedingungen der Blutdruck immer recht hoch. Wird der Blutdruck durch zusätzliche Chloralosegaben gesenkt, so erhält man in allen Fällen deutliche pressorische Cardiazolwirkungen, auch in den Fällen, in denen Cardiazol bei leichter Narkose unwirksam war. Ein Versuchsbeispiel dieser Art bringen wir in Abb. 2. Aus dieser Abbildung geht nun auch die weitere Tatsache hervor, daß bei sukzessiv gesenktem Blutdruck für gleichbleibende Cardiazolgaben ein deutliches Wirkungsoptimum besteht, das hier etwa bei einem Blutdruck von 100 mm Hg liegt. Doch kann dieses Optimum verschieden gelegen sein (80—120 mm Hg).

Auch in den in diesem Abschnitt besprochenen Versuchen wurden bei Verwendung von Dosen, die Krämpfe machten, sehr häufig in Zusammenhang mit diesen Blutdrucksenkungen beobachtet. Bei Vertiefung der Narkose hörten die Krämpfe auf und damit war ein Umschlagen der blutdrucksenkenden in eine blutdrucksteigernde Cardiazolwirkung verbunden. Andererseits wurden krampfmachende Dosen auch häufig blutdrucksteigernd befunden, ohne daß wir die Ursachen für dieses wechselvolle Verhalten des Blutdrucks bei Krämpfen ermitteln konnten.

Es konnte auch beobachtet werden, daß manchmal bei hohem Blutdruck die Wirkung des Cardiazols auch dann in einer Blutdrucksenkung bestand, wenn nicht krampfmachende Dosen verwendet wurden. Da in den hier besprochenen Versuchen die Vagi ausgeschaltet waren, konnte es

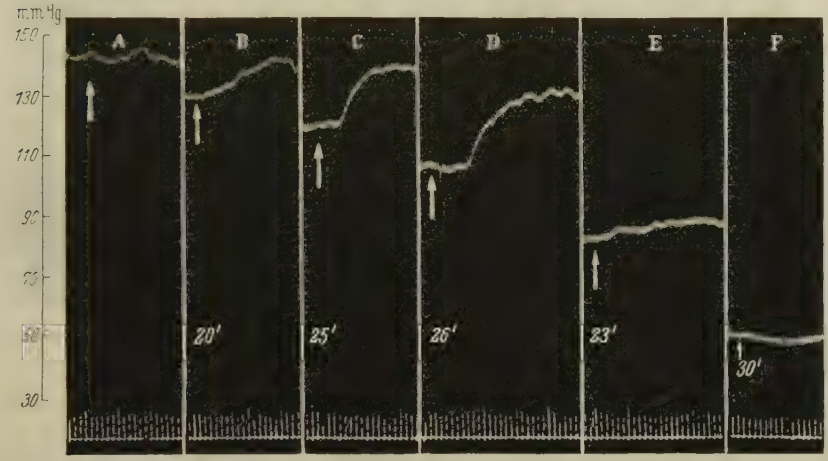


Abb. 2. Katze 2,5 kg, ♂. 68 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten. Bei ▲ 4 mg/kg Cardiazol. Nach *A* 20 mg, nach *B* 20 mg, nach *C* 20 mg, nach *D* 65 mg und nach *E* 70 mg Chloralose.

sich hierbei auch nicht um einen Vagusreiz handeln, wie in früher besprochenen Versuchen. Diese blutdrucksenkende Cardiazolwirkung wurde ebenfalls durch Vertiefung der Narkose aufgehoben, wie Abb. 3 zeigt, und in eine blutdrucksteigernde Wirkung umgekehrt. Bemerkenswert ist noch in dem Versuch der Abb. 3 wie auch in einigen anderen ähnlicher Art, daß die wiederholt in kleinen Dosen gegebene zusätzliche Chloralose zunächst eine weitere Steigerung des Blutdrucks machte, wobei die blutdrucksenkende Wirkung des Cardiazols erhalten blieb. Erst wenn durch noch höhere Chloralosegaben der Blutdruck abgesunken war, traten unter Cardiazol Blutdrucksteigerungen auf. Wurde dann der Blutdruck durch eine Adrenalininfusion wieder gehoben, so löste Cardiazol wieder Blutdrucksenkung aus. Damit ist bewiesen, daß das Verschwinden der blutdrucksenkenden

Cardiazolwirkung bei Vertiefung der Narkose nur mit dem Absinken des Gefäßtonus und nicht mit anderen Wirkungen der Narkose zusammenhängt.

Aus all diesen Versuchen ergibt sich, daß Vertiefung der Narkose auch nach Ausschaltung der Pressoreceptoren den Blutdruckeffekt des Cardiazols noch erheblich fördern kann, wenn man von einer leichten Narkose ausgeht. Damit werden ähnliche Feststellungen, die Palme [11] an Hunden erhoben hat, bestätigt. Dagegen lassen sich unsere Befunde weniger gut vereinigen mit der Forderung van Elsveld, den Nachweis der blutdrucksteigernden Wirkung der Analeptica an nicht narkotisierten decerebrierten Katzen zu erbringen. Diese dürften jedenfalls noch nicht das Optimum abgeben, es sei denn, daß durch die Decerebrierung noch besondere günstige Faktoren

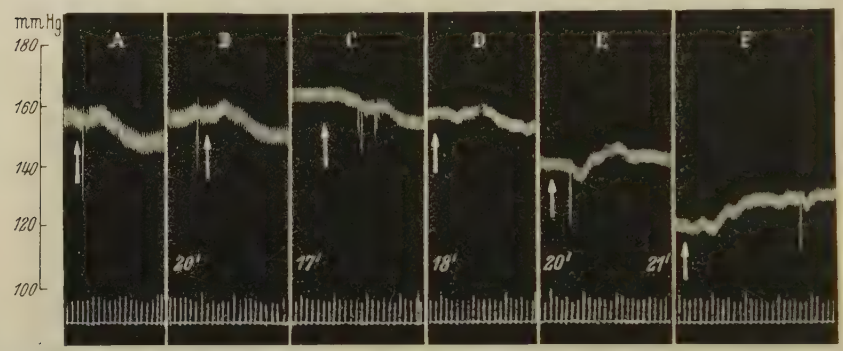


Abb. 3. Katze 2,2 kg, ♀. 55 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden, Versuchspausen in Minuten. Bei ↑ 3,5 mg/kg Cardiazol. Nach *A*, *B*, *C* *D*, *E* jeweils 25 mg Chloralose.

in die Versuchsbedingungen gebracht werden, eine Frage, die noch zu untersuchen sein wird. Besonders hervorzuheben ist, daß nach unseren Erfahrungen bei leichter Chloralosenarkose trotz Ausschaltung der Pressoreceptoren Cardiazol in nicht krampfmachenden Dosen sogar ohne Wirkung auf den Blutdruck oder nur blutdrucksenkend sein kann, während die gleiche Cardiazoldosis in vertiefter Narkose pressorisch wirksam wird.

Dazu kommt, daß die vertiefte Chloralosenarkose die Möglichkeit schafft, mit der Cardiazoldosis weiter heraufzugehen, ohne daß Krämpfe auftreten, und dadurch die Blutdruckwirkung noch weiter zu verstärken. Wir können mit anderen Worten in der tiefen Narkose die schon geschilderte Verbreiterung des Abstandes zwischen krampfmachender und blutdrucksteigernder Dosis als weiteres günstiges Moment der vertieften Narkose buchen. Denn es hat sich immer wieder gezeigt, daß die zum Nachweis einer pressorischen Cardiazolwirkung oft notwendige Blutdrucksenkung durch vertiefte Narkose auch mit Herabsetzung der anfänglich erhöhten Krampfneigung der Katzen einhergeht.

Es ist natürlich nicht möglich, eine für alle Versuche gültige Angabe über den optimalen Narkosegrad sowie über den optimalen Grad der Blut-

drucksenkung zu machen. Es ist auch zu berücksichtigen, daß in manchen Versuchen der Blutdruck spontan abfällt. Es empfiehlt sich daher, die Narkose nur mit etwa 70 mg/kg Chloralose zu beginnen und, wenn nötig, dann weiter zu vertiefen. Bei diesem Vorgehen haben wir stets gute Resultate erhalten. Die höchsten Blutdrucksteigerungen betrugen ohne Krämpfe: 82 mm Hg nach 5 mg/kg Cardiazol (Ausgangsblutdruck 128 mm Hg) und 102 mm Hg nach 7 mg/kg Cardiazol (Ausgangsblutdruck 101 mm Hg). Höhere Cardiazoldosen haben wir im allgemeinen nicht gegeben. Die minimal wirksame Dosis lag noch unter 1 mg/kg. Der Abstand von der minimal krampfmachenden Dosis ist also sicher sehr beträchtlich, wenngleich Angaben über die absolute Größe dieses Abstandes nicht gemacht werden können, da die Krampfdosis je nach der Tiefe der Narkose verschieden ist.

Was ergibt nun ein Vergleich der von uns erzielten Blutdrucksteigerungen mit denjenigen in der Literatur? Es interessieren zunächst die Versuche von Gremels[8], der auch an Katzen mit Chloralosenarkose, jedoch ohne Ausschaltung der Pressoreceptoren gearbeitet hat. Er benutzte nur Chloralosedosierungen von 50—70 mg/kg. Trotz dieser Abweichungen gehen aus seinen Mitteilungen zum Teil gute Blutdruckeffekte des Cardiazols (40 mm Hg oder darüber) hervor. Doch mag begünstigend in seinen Versuchen noch der Umstand mitgewirkt haben, daß der Blutdruck der Versuchskatzen anscheinend meist ziemlich niedrig gewesen ist, was von ihm selbst auf bestimmte operative Eingriffe, die in unseren Versuchen nicht in Frage kommen, zurückgeführt wird.

Die besten Resultate an Katzen hat van Elsveld erhalten. Er beschreibt Blutdrucksteigerungen von 22—122 mg Hg. Sie sind somit von der gleichen Größe wie die von uns erhaltenen. Wenn aber unsere Ausführungen, wonach decerebrierte Katzen sich ähnlich verhalten wie leicht narkotisierte Katzen mit ausgeschalteten Pressoreceptoren, so müßten unsere Ergebnisse, die sich zum großen Teil auf Versuche mit vertiefter Narkose beziehen, im ganzen besser sein. Dies ist auch der Fall, wenn man berücksichtigt, daß wir durchschnittlich mit niedrigeren Dosen (1—7 mg/kg) als van Elsveld (2—14 mg/kg) gearbeitet haben. Auch scheint in den Versuchen van Elsveld der Blutdruck, wohl als Folge des operativen Eingriffs der Decerebrierung, im Vergleich zu dem Verhalten unserer Katzen in leichter Chloralosenarkose schon etwas erniedrigt gewesen zu sein.

Einfluß der Decerebrierung auf die Blutdruckwirkung des Cardiazols.

Man muß aber auch noch ausschließen, daß durch die Decerebrierung auf besondere Weise für den Nachweis der Erregung des Vasomotorenzentrums besonders günstige Bedingungen geschaffen werden. Wir haben daher auch selbst zur eigenen Orientierung Versuche an decerebrierten Katzen angestellt.

In sechs Versuchen an Katzen, die in Äthernarkose decerebriert waren, haben wir meistens nur mäßige Blutdruckwirkungen erzielt. In unseren Versuchen war aber der Blutdruck meist auffallend hoch. Die Bedingungen lagen hier also in der Tat ähnlich wie an nicht decerebrierten Katzen in leichter Chloralosenarkose. Nur wenn der Blutdruck etwas niedriger lag, waren die Ergebnisse besser.

Besondere Einflüsse der Decerebrierung mußten am besten zur Geltung kommen, wenn an ein und demselben Tier die Cardiazolwirkung vor und nach der Decerebrierung geprüft wurde. Einen solchen Versuch haben wir an einer Katze in Chloralosenarkose ausgeführt. Vor der Decerebrierung (nach Ausschaltung der Pressoreceptoren) betrug der Blutdruckanstieg unter Cardiazol (5 mg/kg) 44 mm Hg und nach der Decerebrierung bei gleichem Ausgangsblutdruck 24 mm Hg. Die Cardiazolwirkung wurde nach der Decerebrierung mehrfach im Verlauf von mehreren Stunden geprüft.

Wir können aus diesen Versuchen den Schluß ziehen, daß der Eingriff der Decerebrierung als solcher keine irgendwie gearteten Bedingungen schafft, die die Erregungswirkung des Cardiazols auf das Vasomotorenzentrum besser in Erscheinung treten lassen, so wie das für Campher und Coffein behauptet worden ist. Im übrigen gleichen nach unseren Erfahrungen decerebrierte, nicht narkotisierte Katzen intakten Katzen mit ausgeschalteten Pressoreceptoren und leichter Chloralosenarkose. Nur wenn der Blutdruck etwas erniedrigt ist, liegen die Verhältnisse günstiger. Das scheint in den Versuchen van Elsveld meist der Fall gewesen zu sein.

Einwirkung peripherer Kreislaufschädigung auf die Blutdruckwirkung des Cardiazols.

In den folgenden Versuchen wurde bei leichter oder mittlerer Chloralosenarkose (50—75 mg/kg), d. h. ausgehend von einem nicht erniedrigten oder kaum erniedrigten Blutdruck eine Senkung des Blutdrucks durch Aderlässe oder Injektion gefäßerweiternder Substanzen mit peripherem Angriffspunkt herbeigeführt. Wir wählten die gefäßerweiternden Substanzen unter den körpereigenen aus, und zwar drei Stoffe mit verschiedenem Angriffspunkt: Adenylsäure, Acetylcholin und Histamin. Die Cardiazolwirkung wurde zunächst ohne Blutdrucksenkung geprüft, dann wurde stufenweise der Blutdruck gesenkt und auf jeder Blutdruckstufe die Wirkung der gleichen Cardiazoldosis erneut geprüft. Die gefäßerweiternden Substanzen wurden mit konstanter Geschwindigkeit mit Hilfe eines Infusionsapparates infundiert. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, daß der Blutdruck längere Zeit auf konstanter Höhe blieb, bevor Cardiazol injiziert wurde.

Den Einfluß aufeinanderfolgender Aderlässe haben wir in vier Versuchen geprüft. Wie der Versuch, der in Abb. 4 abgebildet ist, erkennen

läßt, kommt es dabei zunächst zu einer deutlichen Verstärkung der Blutdruckwirkung des Cardiazols bei gleichbleibender Dosierung. Wird aber der Blutdruck zu stark gesenkt, so geht die Cardiazolwirkung wieder zurück, um schließlich nicht mehr nachweisbar zu sein. Ein Bild also, das durchaus mit den Narkoseversuchen Ähnlichkeiten aufweist.

Von den gefäßerweiternden Substanzen untersuchten wir zunächst das Acetylcholin. Leider traten bei der Acetylcholindauerinfusion als störendes Phänomen bei mittleren Graden der Blutdrucksenkung erhebliche rhythmische Blutdruckschwankungen auf, so daß es nur möglich war, die Blutdruckwirkung des Cardiazols bei sehr wenig und bei stark

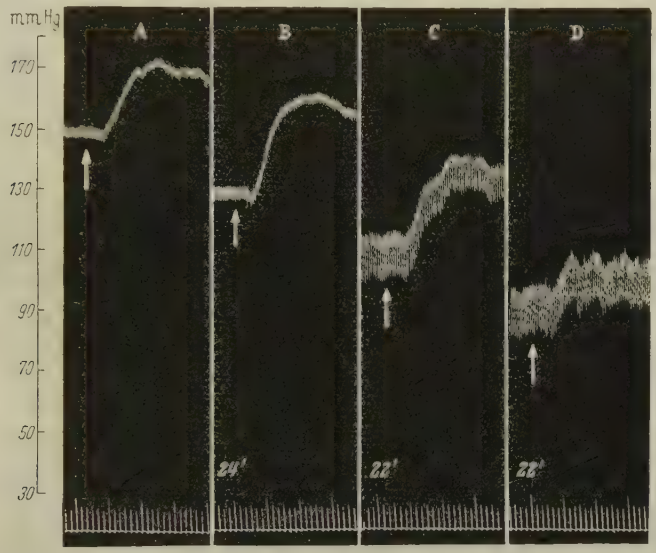


Abb. 4. Katze 3,1 kg, ♂. 80 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten. Bei ↑ 5 mg/kg Cardiazol. Nach *A* Aderlaß von 12 ccm, nach *B* Aderlaß von 35 ccm, nach *C* Aderlaß von 15 ccm.

erniedrigtem Blutdruck zu untersuchen. In Abb. 5, wo ein solcher Versuch wiedergegeben ist, ist die Cardiazolwirkung bei leichter Blutdrucksenkung kaum erkennbar gesteigert (Teil *B* der Abb. 5). Nach Abfall des Blutdrucks auf 53 mm Hg ist der Cardiazoleffekt reduziert, aber noch immer erheblich im Verhältnis zum ursprünglichen Effekt (25 statt 31 mg Hg). Auch nach Drucksenkung unter 50 mm Hg ist die Cardiazolwirkung noch nicht aufgehoben, wenn sie auch jetzt sehr gering geworden ist (7 mm Hg in Teil *D* der Abb. 5). Nach Unterbrechung der Infusion tritt weitgehende, aber nicht vollständige Erholung des Blutdrucks und Restitution der Cardiazolwirkung ein. In ähnlicher Weise ging aus allen Versuchen (insgesamt vier Versuche) hervor, daß Blutdrucksenkungen durch Acetylcholin

die Cardiazolwirkung nur wenig abschwächen, daß vielmehr eine erhebliche Minderung des Blutdruckeffektes erst nach extrem tiefer Blutdrucksenkung auftritt. Nicht sicher aber ließ sich entscheiden, ob bei mittleren Graden der Blutdrucksenkung die Cardiazolwirkung verstärkt wird.

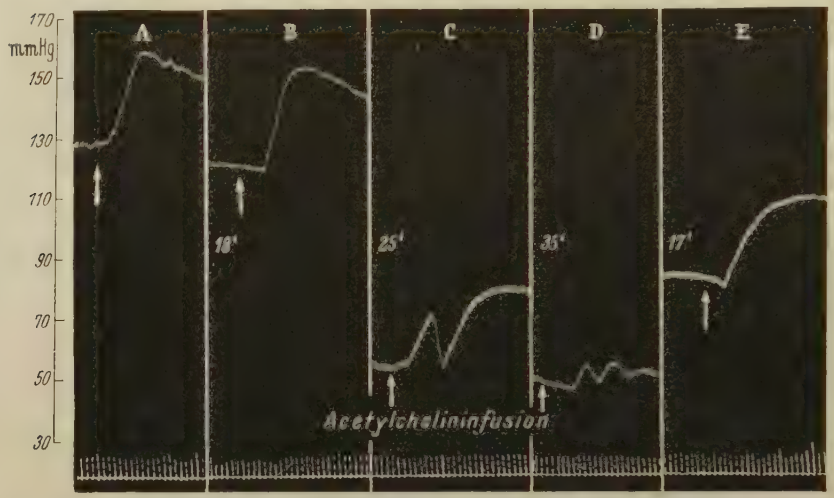


Abb. 5. Katze 2,1 kg, ♀. 50 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten. Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten. Bei ▲ 5 mg/kg Cardiazol. Acetylcholininfusion: B = 0,5 γ/kg/Min.; C = 1.7 γ/kg/Min.; D = 2 γ/kg/Min.

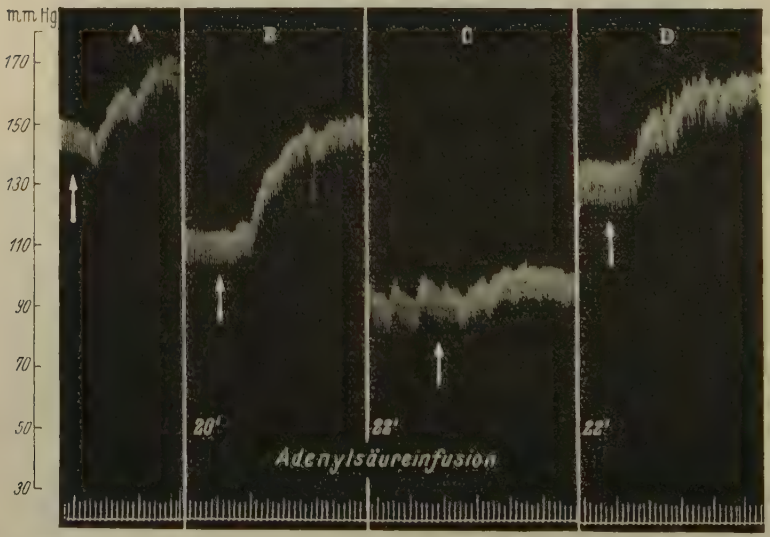


Abb. 6. Katze 2,8 kg, ♂. 60 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten. Bei ▲ 3,5 mg/kg Chloralose. Adenylsäureinfusion: B = 0,97 mg/kg/Min.; C = 2,8 mg/kg/Min.

Deutlich anders wirkten sich Blutdrucksenkungen durch Adenylsäure (Muskeladenylsäure, Firma Henning, Berlin) auf die Cardiazolwirkung aus. In Abb. 6 genügte schon eine Blutdrucksenkung auf etwa 90 mm Hg, um die Wirksamkeit des Cardiazols stark zu vermindern. Andererseits war bei mäßiger Blutdrucksenkung (auf 110 mm Hg) die Wirkung des Cardiazols sogar verstärkt. Die gleiche Feststellung machten wir in zwei von vier Versuchen. Auffallend gut ist die Erholung nach der Adenylsäureinfusion.

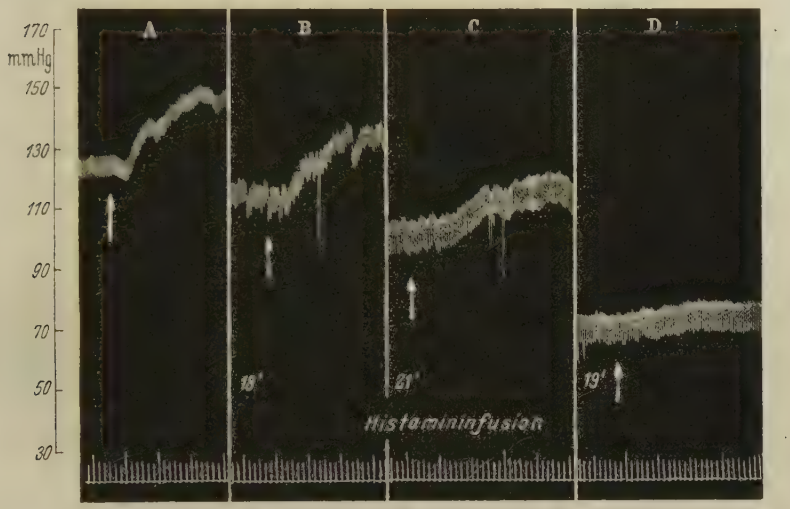


Abb. 7. Katze 3,6 kg, ♂. 60 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden, Versuchspausen in Minuten. Bei ▲ 4 mg/kg Cardiazol. Histamininfusion: B = 1,7 γ/kg/Min.; C = 4,4 γ/kg/Min.; D = 6,6 γ/kg/Min.

Am ungünstigsten ist die Wirkung des Histamins. In vier Versuchen war stets eine zunehmende Abschwächung des sichtbaren Cardiazoleffektes mit fortschreitender Senkung des Blutdruckniveaus festzustellen (Abb. 7). Die Erholung nach der Infusion war immer schlecht.

In einem Versuch wurde der Blutdruck zunächst durch Acetylcholin und später durch Histamin auf jeweils 50 mm Hg erniedrigt. Bei Anwendung der gleichen Cardiazolmenge konnte jedoch nur der Acetylcholinkollaps durchbrochen werden unter Erhebung des Blutdrucks um 38 mm Hg, während der Histaminkollaps unbeeinflußt blieb.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß zwischen den einzelnen Arten peripherer Kreislaufschädigung charakteristische Unterschiede in ihrem Verhalten gegenüber Cardiazol bestehen. Die pressorischen Blutdruckwirkungen des Cardiazols können bei vorsichtiger Einwirkung von Aderlaß, Adenylsäure und möglicherweise auch von Acetylcholin eine Verstärkung erfahren. Bei Histamin dagegen ist das nicht der Fall. Bei stärkeren

Graden der Blutdrucksenkung schwächen alle untersuchten blutdrucksenkenden Eingriffe die Cardiazolwirkung ab oder heben sie auf. Dabei bestehen aber Unterschiede. Am besten bleibt die Cardiazolwirkung während der Acetylcholin- und am schlechtesten während der Histamininfusion erhalten.

Besonderes Interesse verdient noch die Frage, was sich bei einem Vergleich dieser Befunde mit der Einwirkung verschiedener Narkosegrade auf die Cardiazolwirkung ergibt. Offenbar kann mit peripher blutdrucksenkenden Eingriffen ein qualitativ ähnliches Bild wie bei narkotischer Blutdrucksenkung entstehen, d. h. Verstärkung der Cardiazolwirkung bei mäßiger und Abschwächung bei starker Blutdrucksenkung. Quantitativ betrachtet ist zu erwähnen, daß im großen und ganzen bei peripheren Kreislaufschädigungen die Cardiazolwirkung bei etwa den gleichen Graden der Blutdrucksenkung erlischt, wie es bei narkotischer Blutdrucksenkung der Fall ist, wenn wir die Cardiazoldosen bei fortschreitender Blutdrucksenkung konstant lassen. Von den feineren Unterschieden, die zwischen den einzelnen peripher angreifenden blutdrucksenkenden Maßnahmen bestehen, sehen wir hierbei ab. Dagegen besteht zwischen narkotischer und peripherer Kreislaufschädigung der wesentliche Unterschied, daß es bei peripherer Kreislaufschädigung nicht möglich ist, den Cardiazoleffekt bei tiefem Blutdruck durch Vergrößerung der Dosis doch noch zu verbessern, ohne daß Krämpfe auftreten würden. Das aber ist bei dem Narkosekollaps möglich.

Besprechung der Ergebnisse.

Die mitgeteilten Versuche verfolgten in der Hauptsache einen methodischen Zweck. Es kam darauf an, festzustellen, unter welchen Bedingungen die Blutdruckwirkung des Cardiazols möglichst deutlich sichtbar gemacht werden kann. Auch wir machten die Feststellung, daß die Blutdruckwirkungen von Versuch zu Versuch sehr wechseln. Es ist nicht sicher möglich, die Bedingungen von vornherein auf einen optimalen Effekt einzustellen. Eine wichtige Voraussetzung ist die Ausschaltung der Pressoreceptoren (Palme [11]). Das ist auch ein wesentlicher Faktor, der beim Arbeiten mit decerebrierten Katzen eine Rolle spielt. Aber auch nach Ausschaltung der Pressoreceptoren kann der pressorische Effekt des Cardiazols ausbleiben. Denn eine nicht minder wichtige Rolle spielt der Gefäßtonus. Senkt man diesen aber durch verstärkte Narkose, so tritt als konkurrierender Faktor die Abnahme der Ansprechbarkeit des Vasomotorenzentrums in Erscheinung. Es gilt daher, zwischen der Forderung nach möglichster Intaktheit des Vasomotorenzentrums und Erniedrigung des Blutdruckniveaus das Optimum zu finden. Dieses liegt bei mäßig vertiefter Narkose, wobei der durch Senkung des Blutdrucks geschaffene Gewinn noch den Nachteil, den die Narkose des Zentrums mit sich bringt,

überwiegt. Bei zu tiefer Narkose freilich kehrt sich das Verhältnis um. Nicht zuletzt aber ergibt sich bei vertiefter Narkose auch deshalb eine günstige Konstellation für den Nachweis der Cardiazolwirkung, weil der Abstand zwischen blutdrucksteigernder und krampferzeugender Dosis vergrößert ist. Diese Vergrößerung kommt einerseits durch Erhöhung der Ansprechbarkeit des Gefäßsystems und andererseits durch Heraufsetzung der Krampfschwelle zustande. Dabei erscheint noch folgende Überlegung wichtig. Bekanntlich tritt bei fortschreitender Narkose die Lähmung der motorischen Zentren früher ein als diejenige des Vasomotorenzentrums. Dadurch kommt es zu einer Verschiebung im Verhältnis der Erregbarkeit beider Hirngebiete. Es muß in diesem Zustand aber auch die Ansprechbarkeit des Vasomotorenzentrums für Cardiazol weniger aufgehoben sein als diejenige des motorischen Gebietes. Für einen bestimmten Narkosegrad müßte also allein schon auf Grund dieser Überlegung eine Verbreiterung des Abstandes zwischen krampferzeugender und blutdruckwirksamer Dosis angenommen werden.

Führt man die Blutdrucksenkung ohne Lähmung des Vasomotorenzentrums durch peripher wirkende Eingriffe herbei, so kann bei mäßiger Einwirkung der blutdrucksenkenden Maßnahmen ebenfalls die Blutdruckwirkung des Cardiazols deutlicher zur Geltung kommen. Stärkere Blutdrucksenkungen werden dagegen durch Cardiazol nicht mehr aufgehoben. Dabei bestehen gewisse Unterschiede. Relativ am besten wird der Acetylcholinkollaps am schlechtesten der Histaminkollaps von Cardiazol durchbrochen. Unsere Ergebnisse liefern damit auch einen Beitrag zu der Frage, inwieweit zentral angreifende Analeptica bei peripheren Kreislaufschädigungen wirksam sind. Im allgemeinen gelten sie als schlechter beeinflußbar als die zentral bedingten Kreislaufschädigungen wegen der Ungleichheit des Angriffspunktes (Hildebrandt[19]). Andererseits darf man aber auch nicht vergessen, daß bei peripherer Kreislaufschädigung die Erregbarkeit der Zentren nicht wie bei der zentralen Schädigung herabgesetzt ist. Tatsächlich ergeben auch unsere Versuche, daß die Wirkung gleichbleibender Cardiazoldosen bei sukzessiver Blutdrucksenkung peripherer Genese in ähnlichem Grade zurückgeht wie bei narkotischer Blutdrucksenkung ähnlich starken Grades. Und dennoch besteht eine wesentliche Überlegenheit der zentralnarkotischen Kreislaufschädigungen hinsichtlich ihrer Beeinflußbarkeit durch Cardiazol. Diese ergibt sich aus der Tatsache, daß im Narkosekollaps, nicht bei peripher bedingtem Kollaps, der Abstand zwischen blutdruckwirksamer und krampfmachender Dosis vergrößert ist, so daß die Cardiazoldosis unbedenklich hinsichtlich der Krampfgefahr über die Krampfdosis des nicht narkotisierten Organismus noch wesentlich vergrößert werden kann.

Wenn wir hier ausschließlich körpereigene Stoffe zur Herbeiführung peripher bedingter Blutdrucksenkungen untersucht haben, so geschah dies auch aus einem physiologischen bzw. pathophysiologischen Interesse heraus.

Denn unsere Versuche vermitteln Einblicke, in welcher Weise die Blutdruckwirkung körpereigener Stoffe, von denen vor allem das Histamin eine pathologisch-physiologische Bedeutung beanspruchen darf, durch zentralnervöse Einflüsse (die normalerweise durch die Kreislaufreflexe ausgelöst werden) beeinflußt werden können. Auch der Entblutungskollaps ist in diesem Zusammenhang von Interesse. Jedoch vermitteln die mitgeteilten Ergebnisse noch keine Kenntnisse über die feineren Kreislaufvorgänge, die in dem Verhalten des Blutdrucks als eines Bruttoeffektes zum Ausdruck kommen. Es soll die Aufgabe unserer weiteren Untersuchungen sein, auch das Spiel der Teilvorgänge, die den Blutdruck zusammensetzen, bei den geschilderten Erscheinungen aufzuklären.

Zum Schluß noch ein Wort über die gelegentlich durch Cardiazol ausgelösten Blutdrucksenkungen. Es bestehen offenbar drei verschiedene Möglichkeiten. Blutdrucksenkungen können als Folge eines zentralen Vagusreizes auftreten und daher nach Vagotomie nicht mehr auftreten. Wir haben aber auch an vagotomierten Katzen Blutdrucksenkungen beobachtet (bei hohem Blutdruck), die eine andere (periphere?) Genese haben müssen. Beide Vorkommnisse sind selten. Häufiger dagegen treten auffallenderweise Blutdrucksenkungen gleichzeitig mit Krämpfen auf, und zwar sowohl bei erhaltenen als auch bei ausgeschalteten Vagi und Pressoreceptoren. Angaben ähnlicher Art sind in der Literatur nur vereinzelt zu finden, da man meist den Krämpfen eine blutdrucksteigernde Wirkung zuschreibt. Ausdrücklich wird nur von Goworrow und Speranskaja-Stepanowa [13] mitgeteilt, daß von ihnen bei krampfmachenden Cardiazoldosen in der Regel nur Blutdrucksenkung beobachtet worden sei. Einige weitere Angaben über das Verhalten des Blutdrucks im Cardiazolkrampf finden sich auch bei Biehler [20]. Nach Fertigstellung dieser Untersuchungen erschien auch eine kurze Mitteilung von Osterwald [21], der an Hunden im Cardiazolkrampf ebenfalls bald Blutdrucksteigerung, bald Blutdrucksenkung sah. Zu seiner Beobachtung, daß Blutdrucksenkung besonders dann auftritt, wenn die Krämpfe bei tiefer Narkose erzeugt werden, können wir keine Stellung nehmen, da wir nur mit kleinen Cardiazoldosen arbeiteten und daher Krämpfe nur bei nicht sehr tiefer Narkose beobachten konnten. Zweifellos bedarf der Einfluß der Krämpfe auf die Kreislaufvorgänge noch weiterer Analyse.

Zusammenfassung.

Es wird auf Grund von Untersuchungen an Katzen ein Überblick über die Bedingungen gegeben, von denen die Nachweisbarkeit der blutdrucksteigernden Wirkung des Cardiazols im Experiment abhängt. Im einzelnen ergab sich folgendes:

---

[20] Biehler, W.: Allg. Z. f. Psychiatrie und ihre Grenzgebiete **116**, 3 (1940). — [21] Osterwald, K. H.: Klin. Wschr. **1941**, S. 81.

1. Bei leichter Chloralosenarkose (50—60 mg/kg) und erhaltenen Pressoreceptoren gelingt es nicht, eine nennenswerte blutdrucksteigernde Wirkung des Cardiazols mit nicht krampfmachenden Dosen zur Darstellung zu bringen. Wird die Narkose vertieft, so werden vorher unwirksame Dosen pressorisch wirksam. Diese Wirkung wird noch weiter durch Ausschaltung der Pressoreceptoren verstärkt, z. B. in einem Versuch um das über $3^1/_2$fache. Bei leichter Chloralosenarkose mit hohem Blutdruck kann aber auch nach Ausschaltung der Pressoreceptoren die blutdrucksteigernde Wirkung des Cardiazols noch ausbleiben, während sie durch Vertiefung der Narkose, sofern der Blutdruck dabei absinkt, zur Geltung kommt. Es läßt sich bei gleichbleibender Cardiazoldosierung und zunehmender Narkosetiefe an Hand der narkotischen Blutdrucksenkung ein deutliches, bei 80—120 mm Hg gelegenes Optimum feststellen, wo die Cardiazolwirkung am stärksten ausfällt.

2. Blutdrucksenkungen durch Cardiazol können drei Ursachen haben: sie können auf zentralem Vagusreiz beruhen und nach Vagotomie verschwinden oder auch nach Vagotomie noch vorhanden sein und dann auf anderer Ursache beruhen. Im letzteren Falle verschwindet die blutdrucksenkende Cardiazolwirkung durch Vertiefung der Narkose. Schließlich findet man sehr häufig Blutdrucksenkungen mit Krämpfen in Zusammenhang stehen und mit diesen ebenfalls durch Vertiefung der Narkose verschwinden.

3. Die Krampfdosis des Cardiazols ist in leichter Chloralosenarkose herabgesetzt (von 11 mg/kg auf etwa 6 mg/kg), während sie mit Vertiefung der Narkose wieder heraufgesetzt wird. Es ergibt sich dabei zugleich mit Vertiefung der Narkose eine Verbreiterung des Abstandes zwischen krampfmachender und blutdruckwirksamer Dosis, die sehr erheblich sein kann.

4. Durch diese Feststellungen sind die optimalen Bedingungen zum Nachweis der blutdrucksteigernden Cardiazolwirkung durch mäßig vertiefte Narkose, die den Blutdruck etwas senkt, und Ausschaltung der Pressoreceptoren gekennzeichnet. Es wurden Blutdrucksteigerungen um über 100 mm Hg mit Dosen, die 5—7 mg/kg nicht überschritten, gesehen. Die minimal wirksame Dosis lag noch unter 1 mg/kg.

5. Decerebrierte Katzen mit durchschnittenen Vagi gleichen in ihrem Verhalten gegenüber Cardiazol Katzen mit ausgeschalteten Pressoreceptoren und leichter Chloralosenarkose. Besondere fördernde Einflüsse der Decerebrierung auf die Erregbarkeit des Vasomotorenzentrums durch Cardiazol waren nicht zu ermitteln.

6. Auch durch peripher angreifende blutdrucksenkende Maßnahmen kann die blutdrucksteigernde Wirkung des Cardiazols deutlicher sichtbar gemacht werden, und zwar durch Aderlässe, Adenylsäure, vielleicht auch Acetylcholin, nicht dagegen Histamin. Es besteht dabei ein Optimum der Blutdrucksenkung, nach dessen Unterschreitung in allen Fällen die Cardiazol-

wirkung wieder zurückgeht und schließlich wieder aufgehoben wird. Es bestehen in dieser Aufhebung der Cardiazolwirkung durch tiefe Blutdrucksenkung Unterschiede zwischen den einzelnen blutdrucksenkenden Stoffen. So bleibt selbst bei tiefer Blutdrucksenkung durch Acetylcholin der Cardiazoleffekt noch nachweisbar, während andererseits Histamin die Cardiazolwirkung schon bei relativ schwacher Blutdrucksenkung geringer erscheinen läßt.

7. Die Blutdruckwirkung einer bestimmten Cardiazoldosis wird durch starke Blutdrucksenkung infolge übermäßig vertiefter Narkose im großen und ganzen in ähnlichem Grade aufgehoben wie durch intensive Blutdrucksenkung infolge peripherer Eingriffe. Wenn trotzdem zentral bedingte Kreislaufschäden als besser durch Cardiazol beeinflußbar zu gelten haben, so liegt das daran, daß nur im Narkosekollaps die Cardiazoldosis um das Mehrfache gesteigert werden kann, ohne daß Krämpfe auftreten.

Für diese Untersuchungen wurde uns in dankenswerter Weise Cardiazol von der Firma Knoll A. G., Ludwigshafen, und Muskeladenylsäure von der Firma Henning, Berlin, zur Verfügung gestellt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Vergleichende Untersuchungen über die Krampf- und Blutdruckwirkung verschiedener Analeptica.

Von
Fritz Hahn.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1941.)

Anschließend an die vorausgehenden Untersuchungen über die Blutdruckwirkung des Cardiazols haben wir auch eine größere Reihe anderer Analeptica herangezogen und damit vergleichende Untersuchungen über ihre Blutdruckwirkung ausgeführt. Bisher sind solche Vergleichsversuche häufiger an Hand der Weck- und Atemwirkung vorgenommen worden. Auf die Blutdruckwirkung beziehen sich nur die ausführlichen vergleichenden Untersuchungen von Stross[1], Junkmann und Stross[2], van Elsveld[3] sowie Regniers und Vleeschhouwer[4].

Solche Untersuchungen beanspruchen vor allem in Hinblick auf folgende Fragen Interesse:

1. Tritt die Wirkung bei allen Analepticis mit der gleichen Regelmäßigkeit auf oder ist sie bei manchen unsicherer als bei anderen?
2. Ist der Abstand zwischen blutdrucksteigernder und krampfmachender Dosis bei allen Analepticis gleich groß oder nicht?
3. Ist die Blutdruckwirkung der verschiedenen Analeptica auch durch qualitative Besonderheiten unterschieden?

Auf Unterschiede in der Zuverlässigkeit der Wirkung deuten einige Angaben in der Literatur. So ist nach Junkmann und Stross[2] die Blutdruckwirkung des Coffeins und Strychnins viel schwieriger nachzuweisen als diejenige des Cardiazols, Coramins und Hexetons. Nach van Elsveld[3] wirkt Hexeton regelmäßiger als Cardiazol und Coramin, Coffein am regelmäßigsten und Strychnin am unregelmäßigsten.

Die Frage nach dem Abstand zwischen blutdruckwirksamer und krampfmachender Dosis hat bisher kaum exakte Bearbeitung erfahren, wiewohl sie in manchen Arbeiten zum mindesten angedeutet erscheint. Man gewinnt jedoch aus der Literatur den Eindruck, daß man geneigt ist,

---

[1] Stross, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **131**, 18 (1928). — [2] Junkmann, K., u. W. Stross: Ebenda **131**, 1 (1928). — [3] van Elsveld, L. W.: Ebenda **149**, 348 (1930). — [4] Regniers, P., u. G. de Vleeschhouwer: Arch. internat. Pharmacodynam. **50**, 65 (1935).

manche Analeptica hinsichtlich des Krampf-Blutdruckdosenverhältnisses ungünstiger zu beurteilen als andere. Nach den Untersuchungen von Junkmann und Stross[2] erscheint es z. B. viel unsicherer, mit Strychnin und Pikrotoxin eine Blutdrucksteigerung ohne Krämpfe herbeizuführen, als es bei anderen Analepticis der Fall ist. Coramin macht nach Regniers und Vleeschhouwer[4] nur in krampfauslösenden Dosen eine Blutdrucksteigerung im Gegensatz zu Cardiazol. Axmacher[5] findet für das von ihm untersuchte Methylimidazol die Wirkungsbreite sehr groß, indem er seine Befunde mit den von Gremels[6] für andere Analeptica gefundenen Verhältnissen vergleicht. Gremels fand im allgemeinen die Krampfdosen von Cardiazol, Coramin und Hexeton nahe bei den blutdrucksteigernden liegen.

Qualitative Besonderheiten einzelner Analeptica scheinen sich vor allem aus den Beobachtungen über blutdrucksenkende Wirkungen zu ergeben. Jedoch läßt sich ein völlig einheitliches Bild über diese Frage nicht aus der Literatur gewinnen, da für die meisten Analeptica Mitteilungen über blutdrucksenkende Eigenschaften vorliegen. Während die Mehrzahl der Autoren für das Cardiazol im allgemeinen eine rein pressorische Wirksamkeit annimmt, wobei nach Eichler und Hildebrandt[7] der Blutdrucksteigerung höchstens eine leichte Senkung vorausgehen kann, geben Camp[8], Watt[9], Barker und Levine[10], David und Vareed[11], Gellhorn und Darrow[11a] Blutdrucksenkung als ausschließliche oder häufigste Cardiazolwirkung an. Mit Coramin erhielten v. Issekutz[12] und in nicht krampfmachenden Dosen Regniers und Vleeschhouwer[4] ausschließlich Blutdrucksenkung. Massart[13] sowie auch Feger[14] sahen diese Blutdrucksenkungen teilweise von anschließenden Blutdrucksteigerungen gefolgt. Uhlmann[15] dagegen findet als die hauptsächliche Wirkung des Coramins die Blutdrucksteigerung und sieht nur manchmal dieser eine Blutdrucksenkung vorausgehen. Zinnitz und v. Bergmann[16] erhielten an Rückenmarkskatzen mit allerdings sehr hohen Coramindosen reine Blutdrucksenkungen, während Cardiazol den Blutdruck unverändert ließ. Uhlmann hatte dagegen schon früher über Versuche an Rückenmarkskaninchen berichtet und dabei nach Coramin Blutdrucksteigerungen in Zusammenhang mit Krämpfen gesehen. An decerebrierten Katzen beschreibt van Elsveld[6] Blutdrucksteigerungen nach Coramin. Mit Neospiran erhielten Haffner,

---

[5] Axmacher, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 478 (1936). — [6] Gremels, H.: Ebenda **153**, 36 (1930). — [7] Eichler, O., u. Hildebrand, F.: Ebenda **116**, 110 (1926). — [8] Camp, W. J. R.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 81 (1928). — [9] Watt, J. M.: Arch. internat. Pharmacodynam. **36**, 225 (1929). — [10] Barker, M. H., u. S. A. Levine: Arch. int. Med. **42**, 14 (1928). — [11] David, J. Ch., u. C. Vareed: Indian. J. med. Res. **16**, 920 (1929). — [11a] Gellhorn, E., u. Ch. W. Darrow: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 114 (1939). — [12] v. Issekutz, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 415 (1935). — [13] Massart, J.: Arch. internat. Pharmacodynam. **37**, 34 (1930). — [14] Feger, G.: Hannover Diss. 1936. — [15] Uhlmann, F.: Z. exper. Med. **43**, 556 (1924). — [16] Zinnitz, F., u. F. v. Bergmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 335 (1936).

Schellong und Baetzner[17], ferner Nakazawa[18], Blutdrucksteigerung. Cycliton ist in den Versuchen von Hoffer und Reinert[19] blutdrucksenkend, in denjenigen von Frommel[20] blutdrucksteigernd gewesen. Auf blutdrucksenkende Wirkungen des Hexetons weisen vor allem Gremels[6] und Gollwitzer-Meier[21] hin, während Stross[1] und van Elsveld[6] darüber nichts aussagen. Eine initiale Blutdrucksenkung nach Coffeingaben ist oft beschrieben worden, wird aber auch nicht immer erwähnt (z. B. van Elsveld[3]).

Diese Angaben weisen noch auf besondere Angriffspunkte der Analeptica hin. So soll die Blutdrucksenkung durch Cardiazol durch zentrale Vagusreizung (Eichler und Hildebrandt[7]) zustande kommen. Über weitere Möglichkeiten berichten eigene Untersuchungen (Hahn[22]). Für die Blutdrucksenkung durch Coramin soll neben der Vagusreizung noch eine Wirkung aufs Herz sowie auf die Gefäße von Bedeutung sein (Massart[13]). Für die blutdrucksenkenden Wirkungen des Hexetons wird Herzschädigung (Gremels[6]), des Coffeins Herzarrhythmie (Sollmann und Pilcher[23]) und Krampf der Lungengefäße angeschuldigt (Stross[1]). Auch die Blutdrucksteigerung muß nicht ausschließlich durch Reizung des Vasomotorenzentrums zustande kommen. So ist vor allem für das Coffein die Herzwirkung dabei zu berücksichtigen. Die Reizung akzessorischer vasomotorischer Zentren im Rückenmark durch Strychnin ist vor allem durch die Untersuchungen Langleys[24] bekanntgeworden.

Die mitgeteilten Untersuchungen geben noch kein hinlänglich genaues Bild über die zwischen den einzelnen Analepticis hinsichtlich ihrer Blutdruckwirkung bestehenden Unterschiede. Was zunächst die Frage nach der Regelmäßigkeit der Wirkung betrifft, so muß man berücksichtigen, daß schon für ein und dasselbe Analepticum der Blutdruckeffekt von Versuch zu Versuch sehr verschieden ausfällt. Dies fällt um so mehr ins Gewicht, als viele der vorliegenden Untersuchungen unter Bedingungen ausgeführt worden sind, die noch nicht ausreichend sind, um sicher eine blutdrucksteigernde Wirkung der Analeptica in Erscheinung treten zu lassen. Die im Experiment bestehende Unsicherheit des Nachweises blutdrucksteigernder Wirkungen der Analeptica hat zur Folge, daß man keineswegs die verschiedenen Analeptica getrennt in verschiedenen Versuchen prüfen und die Ergebnisse dann miteinander vergleichen darf. Jedenfalls haben statistische Aussagen auf dieser Basis bei der praktisch doch immer nur sehr begrenzten Versuchszahl beschränkten Wert. Prüft man dagegen die zu vergleichenden Analeptica an ein und demselben Tier

---

[17] Haffner, F., F. Schellong u. W. Baetzner: Med. Klin. **1935**, S. 1561. — [18] Nakazawa, Yoshirô: Fol. pharmacol. jap. **28**, 80 (1940). — [19] Hoffer, M., u. M. Reinert: Arch. internat. Pharmacodynam. **56**, 211 (1937). — [20] Frommel, E.: Revue Médicale de la Suisse Romande **57**, 520 (1937). — [21] Gollwitzer-Meier, Kl.: Klin. Wschr. **1936**, S. 508. — [22] Hahn, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 1941, im Druck. — [23] Sollmann, T., u. J. D. Pilcher: J. Pharmacol. (Am.) **3**, 19 (1911/12). — [24] Langley, J. N.: J. Physiol. (Brit.) **53**, 120 (1919/20).

unter gleichen Bedingungen, so muß schon eine relativ geringe Zahl von Versuchen eine einigermaßen zuverlässige Aussage darüber gestatten, ob ein Analepticum regelmäßiger als ein anderes blutdrucksteigernd wirkt. Über derartige Versuche wird aber in der Literatur nicht ausdrücklich berichtet.

Die gleichen Überlegungen ergeben sich für die Feststellung des Verhältnisses zwischen blutdruckwirksamen und krampfauslösenden Dosen. Erfahrungen, die hierüber in getrennten Versuchen gewonnen sind, können nicht miteinander verglichen werden, weil der Abstand zwischen beiden Dosen je nach den Versuchsbedingungen verschieden sein kann, und zwar schon für ein und dasselbe Analepticum. Die Frage kann daher nur lauten, ob unter den gleichen Bedingungen an demselben Tier Unterschiede festzustellen sind. Man braucht dabei nicht den Abstand zwischen blutdruckwirksamen und krampfauslösenden Dosen zu messen, sondern es genügt, festzustellen, ob die zur Erzielung eines gleich großen Blutdruckeffekts notwendigen Dosen zweier Analeptica in demselben Verhältnis zueinander stehen wie die krampfmachenden Dosen. Ist das nicht der Fall, so muß natürlich die Spanne zwischen reiner Blutdruckwirkung und der Krampfwirkung verschieden groß sein, ohne daß man damit die tatsächliche Größe dieses Abstandes kennt. Aber über die Frage, ob zwischen den einzelnen Analepticis in der angegebenen Hinsicht Unterschiede bestehen, erhält man auf diese Weise jedenfalls in erster Annäherung Auskunft. Für genaue Untersuchungen wäre noch die Feststellung der Dosis-Wirkungskurve von Wert, deren Bestimmung aber bei der Blutdruckwirkung der Analeptica auf technische Schwierigkeiten stößt.

Schließlich lassen sich durch vergleichende Untersuchungen an demselben Tier auch viel schärfer die qualitativen Unterschiede im Verlauf der Blutdruckkurve nach der Einverleibung verschiedenartiger Analeptica erfassen, Unterschiede, die durch die wechselnde Interferenz von blutdrucksenkenden Eigenschaften und vielleicht auch durch besondere Qualitäten der blutdrucksteigernden Wirkung gegeben sein können.

Aus den angeführten Gründen haben wir erneut folgende Analeptica hinsichtlich ihrer Blutdruckwirkung miteinander verglichen: Cardiazol, Azoman, Hexeton, Coffein, Theophyllin, Pikrotoxin, Strychnin, Coramin, Neospiran und Cycliton. Wir gingen dabei so vor, daß wir in jedem Versuch jeweils ein oder in manchen Fällen auch mehrere dieser Analeptica immer mit demselben Analepticum verglichen. Zu diesem Standardanalepticum wählten wir Cardiazol. Das Cardiazol ergibt nämlich, wie die vorausgehenden Untersuchungen uns gezeigt haben, unter geeigneten Bedingungen eine praktisch reine Blutdrucksteigerung. Seine Wirkung geht ferner rasch vorüber und ist an demselben Tier mehrfach quantitativ reproduzierbar, sofern die Versuchsbedingungen konstant gehalten sind. Mit dem Cardiazol haben wir alle anderen Analeptica verglichen, indem wir gewöhnlich davon ausgingen, Dosen miteinander zu vergleichen, die zu der geprüften Cardiazoldosis im Verhältnis der Krampfdosen standen.

Die Versuche wurden an Katzen ausgeführt. Die Versuchsbedingungen waren so eingestellt, daß mit Cardiazol mit Regelmäßigkeit eine reine Blutdrucksteigerung zu erzielen war. Es wurden vor allem die Pressoreceptoren durch Abklemmung der Carotiden und Vagotomie ausgeschaltet. Die Narkose war nur leicht vertieft (60—85 mg/kg Chloralose) und der Blutdruck daher meist nicht oder nicht besonders stark erniedrigt, da es uns nicht darauf ankam, möglichst starke Blutdrucksteigerungen zu erzielen. Künstliche Atmung. Die einzelnen Analeptica wurden jeweils mit der gleichen Geschwindigkeit und möglichst auch in dem gleichen Flüssigkeitsvolumen injiziert.

Da die Krampfdosen für die meisten Analeptica bei Katzen nicht oder nicht genügend festlagen, mußten sie ebenfalls vorher ermittelt werden. Wir bestimmten sie bei rascher, intravenöser Injektion. Wir injizierten das Analepticum in einem Flüssigkeitsvolumen von 1—1,5 ccm in 3 Sekunden. Für das Cardiazol betrug unter 14 Katzen die minimale krampfauslösende Dosis 11 mg/kg.

Experimentelle Ergebnisse.

Azoman.

Die minimale Krampfdosis dieses dem Cardiazol am nächsten stehenden Analepticums ermittelten wir mit 1,5 mg/kg. In bezug auf die Krampf-

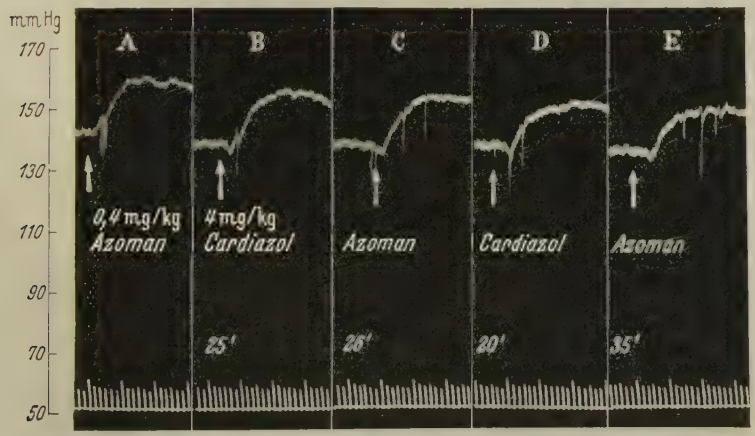


Abb. 1. Katze, 2,55 kg, ♂. 75 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

wirkung ist es also etwa 7,5mal wirksamer als Cardiazol. Behrens, Dinkler und Woenckhaus[25] finden bei Kaninchen eine etwa zehnmal größere, Hildebrandt und Bruns[26] bei Ratten eine siebenmal größere Wirksamkeit des Azomans.

[25] Behrens, B., G. Dinkler u. E. Woenckhaus: Klin. Wschr. **1937**, S. 944. — [26] Hildebrandt, F., u. J. Bruns: Schmerz usw. **11**, 112 (1938).

Über das Verhältnis der Blutdruckwirksamkeit unterrichtet die Abb. 1. Aus dieser geht hervor, daß Azoman schon in zehnfach kleinerer Dosis genau den gleichen Blutdruckeffekt hervorbringt wie Cardiazol. Die Blutdrucksteigerungen hielten auch etwa gleich lange an. Sie waren ferner wiederholt nahezu genau reproduzierbar, woraus sich ergibt, daß tatsächlich derartige Auswertungen von Analepticis am gleichen Tier sehr gut durchführbar sind. Das gleiche Ergebnis hatten zwei weitere Versuche. Es steht also dem Verhältnis der Krampfdosen von Azoman zu Cardiazol, welches 1 : 7,5 beträgt, ein Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen von 1 : 10 gegenüber. Gegen diese Feststellung ist nun der Einwand möglich, daß die Krampfdosen am nicht narkotisierten Tier, die Blutdruckwirkung am narkotisierten Tier geprüft wurde. Es könnte also in dem abweichenden Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen lediglich ein Unterschied in dem Antagonismus von Cardiazol und Azoman gegenüber Chloralose zum Ausdruck kommen. Wir sind dieser Frage, da die Abweichung nicht bedeutend erscheint, nicht weiter nachgegangen. Die Sicherheit der Wirkung war in allen Versuchen mit Azoman die gleiche wie bei Cardiazol.

Hexeton.

Dieses dem Campher nahestehende Analepticum fanden wir hinsichtlich der Krampfwirkung etwa $3^1/_2$fach wirksamer als Cardiazol (in Übereinstimmung mit den Feststellungen Schoens [27] an Kaninchen). Das Hexeton kam in 0,2%iger wässeriger Lösung ohne Natriumsalicylatzusatz zur Verwendung.

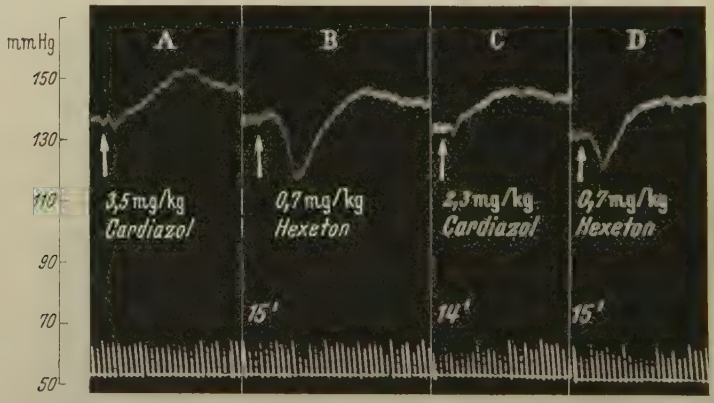


Abb. 2. Katze, 2,85 kg, ♂. 75 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

In den Blutdruckversuchen stellten wir fest, daß der durch Hexeton ausgelösten Blutdrucksteigerung stets eine Senkung vorausging, unter

[27] Schoen, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **113**, 257 (1926).

Bedingungen, unter denen Cardiazol rein oder fast rein pressorisch wirksam war. Diese Senkungen konnten sehr verschieden tief sein und verschieden lange anhalten. In einem Versuch mit sehr niedrigem Ausgangsblutdruck war die Senkung nur gering. Im allgemeinen entsprach sie dem Ausmaß, wie es in Abb. 2 zum Ausdruck kommt. Was nun die Blutdrucksteigerung betrifft, so war sie fast immer im Anschluß an die Blutdrucksenkung nachweisbar und erreichte ein Ausmaß, das ungefähr der Cardiazolwirkung entsprach bei Verwendung von Dosen, die zueinander im Verhältnis der Krampfdosen standen (Teil B, C und D der Abb. 2). Nur in einem von insgesamt fünf Versuchen fehlte im Anschluß an die Blutdrucksenkung die Blutdrucksteigerung bei mehrmaliger Prüfung entweder ganz oder war nur angedeutet. In diesem Versuch wirkte aber auch Cardiazol nur sehr schwach.

Es steht also die Blutdruckwirkung des Hexetons zum Cardiazol im Verhältnis der Krampfdosen. Nur ausnahmsweise und unter ungünstigen Bedingungen kann einmal die blutdrucksteigernde Wirkung des Hexetons nach der vorausgehenden Blutdrucksenkung ausbleiben. In einem Versuch wurde noch Cardiazol und Hexeton gleichzeitig injiziert. Der Effekt entsprach einer Addition der Wirkungen.

Coffein.

Die Krampfdosis des Coffeins haben wir nicht bestimmt. Doch liegt sie sicher wesentlich höher als bei Cardiazol (Schoen[28]). Für die Blut-

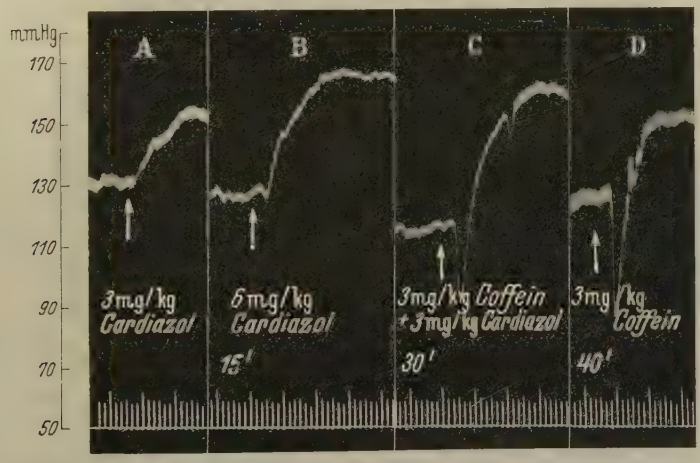


Abb. 3. Katze, 3,15 kg, ♂. 80 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

druckversuche wurde das Coffein als Coffeinum purum 1%ig gelöst. Wir verglichen in sechs Blutdruckversuchen das Coffein mit Cardiazol in Dosen,

[28] Schoen, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **113**, 246 (1926).

die gleich oder halb so groß wie die Cardiazoldosen waren. In allen Versuchen war Coffein regelmäßig blutdrucksteigernd wirksam. Bei gleichen Dosen war die Wirkung dieselbe wie mit Cardiazol. Der Blutdrucksteigerung ging stets eine Senkung voraus, die gleichmäßiger ausgeprägt war als beim Hexeton und einen anderen Charakter hatte. Sie war auffallend steil und tief, wurde aber ebenso rasch von der blutdrucksteigernden Wirkung abgelöst, so daß eine spitze, nach unten gerichtete Blutdruckzacke entstand (Abb. 3). Aus dem Versuche der Abb. 3 geht auch weiterhin hervor, daß gleiche Dosen von Coffein und Cardiazol, zusammen injiziert, dieselbe Wirkung haben wie eine doppelte Cardiazoldosis, wenn wir von der Blutdrucksenkung, die nach Coffein auftritt, absehen.

Das Coffein wirkt also sehr regelmäßig und in gleicher Dosis wie Cardiazol diesem quantitativ gleich blutdrucksteigernd. Der Abstand von der Krampfdosis scheint daher beim Coffein besonders groß zu sein.

Theophyllin.

Wir haben Theophyllin nur einmal untersucht und in seiner blutdrucksteigernden Wirkung etwa fünfmal schwächer als Cardiazol befunden. Der Blutdrucksteigerung ging eine Blutdrucksenkung von ähnlichem Charakter wie nach Coffein voraus.

Pikrotoxin.

Die minimale Krampfdosis des Pikrotoxins ermittelten wir mit 0,3 mg/kg. Pikrotoxin ist also rund 35mal stärker krampferzeugend als

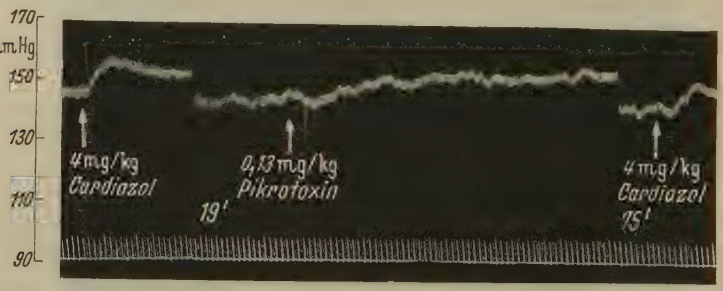


Abb. 4. Katze, 2,28, kg ♂. 75 mg/kg Chloralose Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

Cardiazol. Zum Unterschied von Cardiazol, das bei intravenöser Injektion sofort Krämpfe auslöst, traten nach der intravenösen Injektion des Pikrotoxins die Krämpfe erst nach einer Latenzzeit, und zwar je nach der Dosis, nach einigen Minuten bis zu einer halben Stunde auf.

Ähnlich wie die Krampfwirkung erwies sich nun in sechs Versuchen die Blutdruckwirkung des Pikrotoxins an Dosen gebunden, die 30—35fach kleiner waren als Cardiazoldosen von gleicher Wirksamkeit. Jedoch war

dabei nur eine gleiche Wirkung in bezug auf die bei der Blutdrucksteigerung erreichte Blutdruckhöhe festzustellen. Abweichend verhielt sich dagegen die Geschwindigkeit des Blutdruckanstiegs. Sie war, wie Abb. 4 erkennen läßt, nach Pikrotoxin wesentlich langsamer. Wurde die Pikrotoxindosis vergrößert, so daß sie z. B., wie in dem Versuch der Abb. 5, nur 20fach kleiner war als die vorher geprüfte Cardiazoldosis, so stieg der Blutdruck fast so rasch an wie nach Cardiazol, erreichte aber nunmehr einen höheren Wert. Außerdem konnten dann bei besonderer Lage der Versuchsbedingungen (leichte Narkose) nach Pikrotoxin Krämpfe auftreten (Abb. 5, wo die Krämpfe einen Abfall des Blutdrucks bedingten). Ein weiterer wichtiger Unterschied zwischen der Blutdruckwirkung des Cardiazols und des Pikrotoxins ist die wesentlich längere Dauer der Pikrotoxinwirkung. Sie ist etwa zehnmal größer.

Die Blutdruckwirkung des Pikrotoxins zeigt also offenbar dieselbe Beziehung zur Krampfwirkung, wie es beim Cardiazol der Fall ist. Die

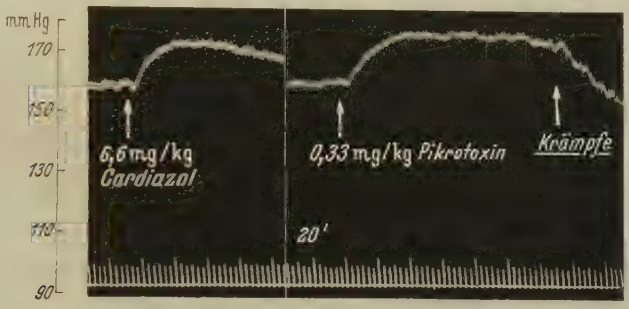


Abb. 5. Katze, 2,25 kg, ♀. 60 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

blutdruckwirksamen Dosen von Pikrotoxin und Cardiazol verhalten sich etwa wie die krampfmachenden Dosen. Ferner kehrt auch die Eigentümlichkeit der Krampfwirkung des Pikrotoxins, nämlich der langsame Wirkungseintritt, bei der Blutdruckwirkung wieder.

Strychnin.

Die Krampfdosis des Strychnins haben wir nicht bestimmt. Auf Grund von Angaben in der Literatur nahmen wir sie als 40fach kleiner als die Krampfdosis des Cardiazols an. Die Richtigkeit dieser Annahme bestätigte sich in den späteren Versuchen, da z. B. bei einem Vergleich mit nicht krampfmachenden Cardiazoldosen die nur 20fach kleinere Strychnindosis Krämpfe auslöste, nicht mehr aber die 40fach kleinere. Bei Einhaltung dieses Verhältnisses stieg jedoch der Blutdruck nur einmal genau so stark an wie vorher unter der Wirkung von Cardiazol, und zwar ohne Krämpfe. In einem zweiten Versuch war Strychnin (0,15 mg/kg) völlig

wirkungslos, obwohl die 40fach größere Cardiazoldosis (6 mg/kg) vorher einen starken Blutdruckanstieg (um 40 mg Hg) hervorgebracht hatte, der mehrmals reproduziert werden konnte. Das Cardiazol rief in diesem Versuch leichte Muskelzuckungen hervor, während Strychnin schon ganz leichte Krämpfe machte, woraus hervorgeht, daß das Strychnin im Sinne unseres Versuchsplanes nicht zu niedrig dosiert war. Bei dem gleichen Dosenverhältnis waren in drei weiteren Versuchen die Blutdruckwirkungen des Strychnins ebenfalls geringer als diejenigen des Cardiazols oder fehlend.

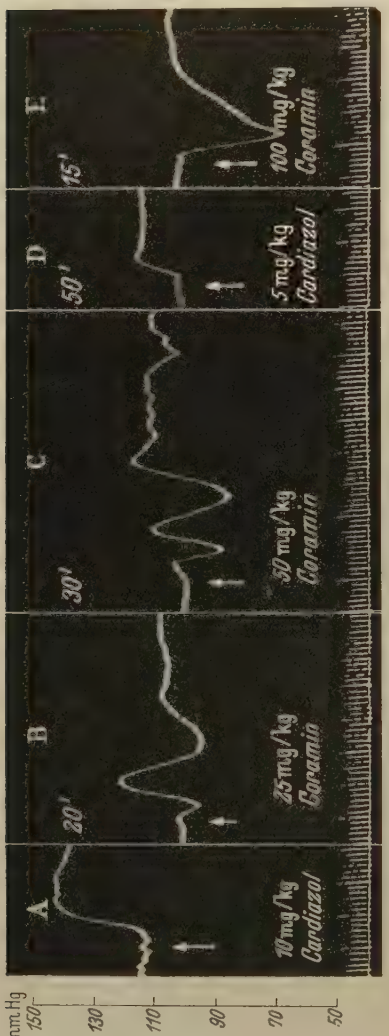


Abb. 6. Katze, 2,05 kg, ♀. 75 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

Durch Vorbehandlung mit Strychnin in kleinen Dosen ließ sich auch keine Verbesserung der Blutdruckwirkung des Cardiazols erzielen, wie wir mehrfach feststellen konnten.

Die Wirkung des Strychnins ist also unsicherer als diejenige des Cardiazols. Zur Erzielung gleicher Effekte sind offenbar beim Strychnin in den meisten Fällen Dosen nötig, die näher an der Krampfgrenze liegen oder diese noch überschreiten müssen.

Coramin.

Die minimale Krampfdosis betrug 55 mg/kg, liegt also fünfmal höher als die Krampfdosis des Cardiazols.

Auch die Blutdruckwirkung des Coramins war in allen Versuchen durch eine blutdrucksenkende Komponente kompliziert. Aber im Vergleich zum Coffein und Hexeton ergaben sich dabei auffallende Besonderheiten. Während bei diesen im Anschluß an die Blutdrucksenkung mehr oder weniger rasch eine reine Blutdrucksteigerung auftrat, konkurrierten beide Wirkungskomponenten des Coramins viel stärker miteinander. Es ergaben sich dabei teilweise recht wechselvolle und eigentümliche Blutdruckkurven,

für die Abb. 6 ein Beispiel wiedergibt. In diesem Versuch macht Cardiazol in einfacher und doppelter Dosis reine Blutdrucksteigerungen. Die kleinere und die mittlere Coramindosis, die den beiden Cardiazoldosen nach Maßgabe des Krampfdosenverhältnisses angepaßt sind, bewirken Blutdrucksteigerungen, die zweimal bzw. dreimal von Blutdrucksenkungen durchbrochen werden, so daß also die Konkurrenz beider Blutdruckwirkungen des Coramins sinnfällig zutage tritt. Mit steigender Dosis werden die Blutdrucksenkungen im Verhältnis zu den Blutdrucksteigerungen immer stärker, und mit einer noch höheren Coramindosis wird sogar eine reine Blutdrucksenkung herbeigeführt. Abb. 7 läßt erkennen, daß auch bei verhältnismäßig kleinen Dosen die Hauptwirkung eine Blutdrucksenkung sein kann, während sich die blutdrucksteigernde Komponente nur in einer

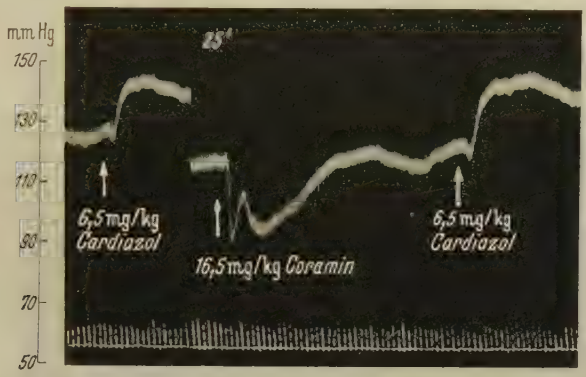


Abb. 7. Katze, 3,0 kg, ♂. 80 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

kleinen Zacke nach bereits voll eingetretener Blutdrucksenkung zu erkennen gibt. Nur mit sehr kleinen Dosen lassen sich auch reine Blutdrucksteigerungen erzielen, die aber nur sehr gering sind.

Coramin besitzt also eine völlig unsichere pressorische Wirkung bei der Katze. Dies beruht auf der starken Interferenz einer blutdrucksenkenden Wirkungskomponente, die die pressorische Komponente stark stören oder die sogar vorherrschend oder ausschließlich in Erscheinung treten kann. Es kommt dabei manchmal zu einem eigentümlichen alternierenden Kurvenverlauf. Eine Aussage über irgendein festes, zur Erzielung gleicher Blutdruckeffekte nötiges Dosenverhältnis von Cardiazol zu Coramin ist bei dieser Sachlage nicht möglich.

Neospiran.

Auf Grund der vorausgehenden Befunde mußte das Verhalten dieses dem Coramin am nächsten stehenden Analepticums besonders interessieren. Die minimale Krampfdosis ermittelten wir mit etwa 2,0 mg/kg. Neospiran

ist also fünf- bis sechsmal wirksamer als Cardiazol und 38mal wirksamer als Coramin.

Die Blutdruckwirkung unterschied sich in bemerkenswerter Weise von derjenigen des Coramins. Auch das Neospiran besitzt eine blutdrucksenkende Komponente. In fast reiner Form tritt diese aber nur mit kleinen Dosen auf (Abb. 8 C). Wird die Dosis vergrößert, so verstärkt sich zwar die blutdrucksenkende Wirkung, aber es tritt nun noch eine Blutdrucksteigerung hinzu (Abb. 8 B). Bemerkenswerterweise geht diese Blutdrucksteigerung aber der Blutdrucksenkung voraus. Der Blutdruckanstieg ist ferner durch die kurze Dauer ausgezeichnet. Ohne Plateaubildung kehrt der Blutdruck nach Erreichung des Maximums wieder um und geht in steilem Abfall in die Blutdrucksenkung über. Schließlich ist für den Blutdruckanstieg außerordentlich charakteristisch der auffallend steile

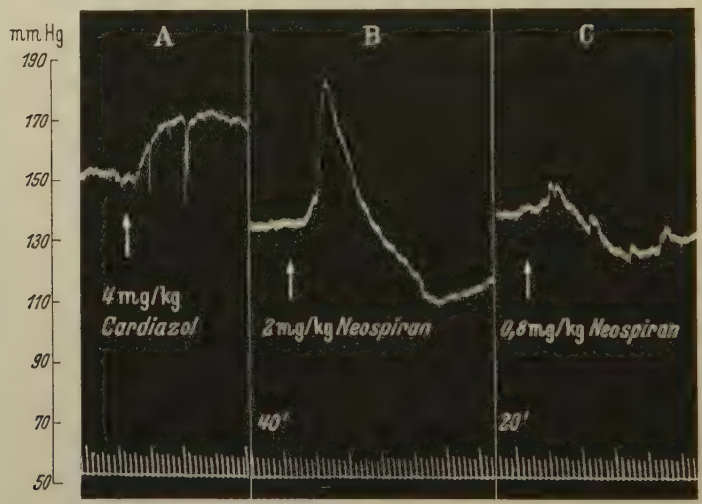


Abb. 8. Katze 2,55 kg, ♂. 75 mg/kg Chloralose. Vagi durchschnitten, Carotiden abgeklemmt, künstliche Atmung. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

Verlauf. Wie aus Abb. 8 hervorgeht, erfolgt der Anstieg wesentlich rascher als nach Cardiazol. Bisweilen war der Anstieg so steil, daß der Blutdruck in einer einzigen fast senkrechten Linie emporschnellte. Dieser brüske Anstieg wurde gewöhnlich von einer kleinen, langsam verlaufenden Blutdrucksteigerung eingeleitet, so daß es fast den Anschein hat, als ob hier zwei verschiedene Wirkungen übereinander gelagert wären (Abb. 8).

Jedenfalls ergibt sich so für die Neospiranwirkung ein charakteristischer Kurvenverlauf, der sich von den Wirkungen aller anderen Analeptica wesentlich unterscheidet, auch von der des chemisch nahestehenden Coramins. Zwar ist auch beim Coramin häufig eine kurze nach oben gerichtete Zacke festzustellen (z. B. Abb. 7). Diese tritt aber erst nach Abfall des Blutdrucks in Erscheinung und bringt meist nicht mehr den

Blutdruck über die Höhe des Ausgangsblutdrucks hinaus. Zum Unterschied vom Neospiran wird beim Coramin außerdem mit steigender Dosis die blutdrucksteigernde Komponente immer undeutlicher.

Auch für das Neospiran läßt sich kein konstantes Wirkungsverhältnis zum Cardiazol bezüglich der blutdrucksteigernden Wirkung angeben. Wichtig ist die Feststellung, daß Dosen, die einer gut wirksamen Cardiazoldosis auf Grund des Verhältnisses der Krampfdosen angepaßt sind, wie es z. B. in Abb. 8 C der Fall ist, eine nahezu reine Blutdrucksenkung bewirken können. In anderen Versuchen war bei gleichem Dosenverhältnis auch das Neospiran pressorisch wirksam. Von großer Bedeutung ist dafür die Höhe des Ausgangsblutdrucks, da bei niedrigem Blutdruck die Blutdrucksteigerung leichter in Erscheinung tritt, wie wir mehrfach feststellen konnten.

Cycliton.

Die minimale Krampfdosis betrug 35 mg/kg. Wir haben das Cycliton nur in zwei Versuchen mit kleinen Dosen (4—6 mg/kg) geprüft und dabei reine Blutdrucksenkungen erhalten. Über die Wirkung größerer Dosen vermögen wir daher nichts auszusagen.

Zusammenfassende Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die mitgeteilten Untersuchungen lassen mancherlei Unterschiede in der Blutdruckwirkung der verschiedenen Analeptica erkennen. Wenn auch einzelne Tatsachen schon bekannt waren, so erlauben doch unsere Befunde durch die besondere Art unseres experimentellen Vorgehens die Unterschiede markanter herauszuarbeiten, als es bisher möglich war, und unsere Kenntnisse zu erweitern.

Im ganzen finden wir zwei Gruppen von Analepticis nach ihren pharmakologischen Verhalten am Kreislauf. Es gibt solche, die unter geeigneten Bedingungen eine reine oder fast reine Blutdrucksteigerung machen, und solche, die stets noch eine starke blutdrucksenkende Eigenschaft haben. Zu ersteren gehört das Cardiazol, Azoman, Pikrotoxin und Strychnin, und zu letzteren das Coramin, Neospiran, Cycliton, Coffein, Theophyllin und Hexeton.

Infolge der Interferenz der blutdrucksenkenden Wirkung kann die Zuverlässigkeit der pressorischen Wirkung in Frage gestellt sein. Dies trifft nicht zu für das Coffein und meist auch nicht für das Hexeton. Beide lassen im Anschluß an die Blutdrucksenkung stets oder fast stets eine Blutdrucksteigerung in Erscheinung treten, sofern die Versuchsbedingungen dafür günstig sind, was in unseren Versuchen stets durch die gleichzeitige Prüfung von Cardiazol kontrolliert wurde. Gemessen an dem Wirkungsverhältnis zum Cardiazol sind die Blutdrucksteigerungen nach Coffein und Hexeton von konstanter Ausprägung. Coffein ist also auch an nicht

decerebrierten Tieren wirksam und nicht nur, wie Junkmann und Stross angeben, an decerebrierten Tieren.

Anders verhält sich das Coramin. Die Blutdrucksteigerung ist unsicher und, gemessen am Cardiazol, von wechselnder Intensität. Sie kann völlig fehlen und einer reinen Blutdrucksenkung Platz machen. Immer handelt es sich dabei um Dosen, die auf Grund des Verhältnisses der Krampfdosen gut wirksamen Cardiazoldosen adäquat sind. Die Versuchsbedingungen waren, wie die gute Wirkung des gleichzeitig mitgeprüften Cardiazols bewies, in den einzelnen Versuchen für den Nachweis zentralbedingter Blutdrucksteigerungen günstig. Auch die Dosierung ist in unseren Versuchen nicht zu hoch, sie bewegt sich jedenfalls unterhalb der Krampfgrenze und kann insoweit als „therapeutische" bewertet werden. Auch das Neospiran kann eine überwiegende Blutdrucksenkung machen. Bei höheren Dosen tritt dazu eine Blutdrucksteigerung, die aber offenbar nicht zur dauerhaften Wirkung gelangt, weil sie von der Blutdrucksenkung unterbrochen und abgelöst wird. Blutdrucksenkende Wirkungen besitzt auch das Cycliton. So sind diese drei chemisch als alkylierte Säureamide sich nahestehenden Analeptica nicht nur hinsichtlich der blutdrucksteigernden Wirkung im Experiment an der Katze unzuverlässig, sondern noch durch das nicht vorausberechenbare Eintreten einer reinen Blutdrucksenkung bemerkenswert. Zweifellos sind das Tatsachen, an denen auch die praktische Therapie nicht achtlos vorübergehen kann, obwohl ihnen bisher, wie es scheint, wenig Beachtung geschenkt worden ist. Zwar ist die blutdrucksenkende Wirkung des Coramins schon Gegenstand genauerer Untersuchungen gewesen (Massart [13]). Doch sind blutdrucksenkende Wirkungen z. B. auch mehrfach für das Cardiazol beschrieben worden. Unsere Untersuchungen tragen aber dazu bei, den Unterschied zwischen Cardiazol, dem sich das ihm chemisch nahestehende Azoman anschließt, und der Gruppe der alkylierten Säureamide schärfer erkennen zu lassen. An Rückenmarkskatzen hatten zwar schon Zinnitz und v. Bergmann [16] mit Coramin nur Blutdrucksenkungen erhalten. Jedoch waren die Dosen auffallend hoch (200 mg/kg). Für den Bereich „therapeutischer" Dosierung sagen diese Befunde daher wenig aus*.

Eine blutdrucksteigernde Wirkung des Coramins ist im Gegensatz zu den Angaben von Regniers und Vleeschhouwer [4] auch in nicht krampfmachenden Dosen nachweisbar, wenn sie auch fast niemals rein zur Geltung kommt. Nun liegen aber für das Coramin in dieser Hinsicht noch günstigere Ergebnisse vor (Uhlmann [15]). Auch Zinnitz und v. Bergmann [16] konnten den Blutdruck am Ganztier durch wiederholte Coramingaben dauernd hochhalten. Auch für das Neospiran wird eine reine Blutdruck-

* Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen wurden wir noch auf folgende Angabe aufmerksam: Stoland, O. O., u. A. M. Ginsberg: [J. Pharmacol. (Am.) **60**, 396 (1937)] finden, daß Coramin eine coronargefäßerweiternde Wirkung hat, die dem Metrazol (= Cardiazol) nicht zukommt.

steigerung von Haffner, Schellong und Baetzner[17] beschrieben. Aber all diese günstigen Ergebnisse wurden an Kaninchen gewonnen. Es erklärt sich so mancher Widerspruch, wenn man berücksichtigt, daß Katzen für blutdrucksenkende Wirkungen besonders empfindlich zu sein scheinen. Nur die Befunde van Elsvelds[3] mit Coramin an decerebrierten Katzen bleiben so unerklärt*.

Auffallend sind auch die Unterschiede im Verlauf der Blutdruckkurve nach der Injektion der einzelnen Analeptica, da die Blutdrucksenkung der Blutdrucksteigerung vorausgehen (Hexeton, Coffein), ihr nachfolgen (Neospiran) oder sie mehrfach unterbrechen kann (Coramin). Von den übrigen Analepticis liefern Azoman und Pikrotoxin, gemessen an der Cardiazolwirkung, konstante Ergebnisse. Die zur Erzielung eines gleich großen Blutdruckeffekts notwendigen Dosen von Azoman, Pikrotoxin und Hexeton stehen alle zum Cardiazol mehr oder weniger im Verhältnis der Krampfdosen. Man darf daher für die blutdruckwirksamen Dosen von Cardiazol, Azoman, Hexeton und Pikrotoxin etwa den gleichen Abstand von der Krampfschwelle, mithin die gleiche Wirkungsbreite, annehmen. Eine kleine Abweichung besteht vielleicht für das Azoman, dessen Wirkungsbreite etwas größer erscheint. Für das Pikrotoxin wurde bisher meist eine Wirkungslosigkeit in nicht krampfmachenden Dosen angenommen. Darauf wird vor allem von Junkmann und Stross[2] hingewiesen, die diese Beobachtungen in der Literatur im Einklang mit ihren eigenen Feststellungen finden. Dieses von uns nicht bestätigte Ergebnis erklärt sich nach unserer Meinung durch den langsamen Anstieg des Blutdrucks nach nicht krampfmachenden Pikrotoxindosen. Dadurch kann leicht der Eindruck einer geringen Blutdruckwirksamkeit entstehen. Das Bild ändert sich aber, wenn man ein anderes Analepticum (Cardiazol) mitprüft und den Blutdruckeffekt nicht an der Geschwindigkeit des Blutdruckanstiegs, sondern an dem Betrag, um den der Blutdruck erhöht wird, mißt.

Eine auffallende Unsicherheit besteht hinsichtlich der blutdrucksteigernden Wirkung des Strychnins, ohne daß diese auf die Interferenz blutdrucksenkender Wirkungen zurückgeführt werden könnte. Unsere Befunde stehen im Einklang mit den Befunden van Elsvelds an decerebrierten Katzen. Damit entfällt auch der mögliche Einwand, daß unsere Versuche in Narkose durchgeführt worden sind und daher möglicherweise lediglich einen schlechteren Antagonismus zwischen Narkoticum und Analepticum beweisen. Ebenso ist das Strychnin hinsichtlich des Abstandes zwischen blutdrucksteigernder und krampfmachender Dosis ungünstiger

* Gremels teilt einen Versuch mit Coramin an Katzen mit und findet eine reine Blutdrucksteigerung. Aber da die Dosis sehr klein war (10 mg bei einer Katze von 3,0 kg) und der Blutdruck zudem sehr niedrig war, widerspricht dieser Versuch nicht unseren Feststellungen. Gollwitzer-Meier findet sowohl mit Cardiazol wie mit Coramin Blutdrucksenkungen (an Katzen) und führt sie auf Vaguswirkung zurück. Unsere Versuche, die an vagotomierten Katzen ausgeführt sind, geben ein anderes Bild.

als die anderen Analeptica zu beurteilen. Es ist zwar möglich, wie wir mit van Elsveld und im Gegensatz zu Junkmann und Stross feststellen konnten, auch mit Strychnin eine Blutdrucksteigerung ohne Krämpfe zu erhalten. Aber dies gelingt offenbar nur relativ selten unter Bedingungen, die für andere Analeptica (Cardiazol) eine sichere pressorische Wirkung garantieren.

Ein besonders weiter Abstand ergibt sich für die blutdrucksteigernden Dosen von Coffein von der Krampfschwelle. Jedoch ist es einstweilen nicht erlaubt, hieraus etwa auf ein besonders günstiges Verhältnis in der Ansprechbarkeit jener Zentren für Coffein zu schließen, die für die Krampfwirkung einerseits und die Blutdruckwirkung andererseits in Frage kommen. Denn die Beteiligung der Herzwirkung ist ein in unseren Versuchen nicht abschätzbarer Vorgang. Es sind von uns weitere Versuche in dieser Richtung geplant.

Für die Analeptica aus der Gruppe der alkylierten Säureamide (Coramin, Neospiran und Cycliton) läßt sich hinsichtlich der blutdruckwirksamen Dosen kein konstantes Wirkungsverhältnis zum Cardiazol angeben und somit auch nichts über die Wirkungsbreite aussagen. Sicher aber ist es möglich, Blutdrucksteigerungen ohne Krämpfe nachzuweisen.

Unsere Mitteilungen beschränken sich auf eine rein phänomenologische Beschreibung der zwischen den einzelnen Analepticis gefundenen Unterschiede an Hand der Blutdruckwirkung. Da diese eine „Bruttowirkung" darstellt, sind für unsere weiteren Versuche zur Analyse der Erscheinungen die Wege durch die Notwendigkeit einer Erforschung der hämodynamischen Teilvorgänge vorgezeichnet.

Unsere Versuche zeigen auch erneut, daß man die Kreislaufwirkung der Analeptica nicht nur von der Warte der zentralen Vasomotorenreizung aus begreifen kann. Es ergeben sich Hinweise für eine Differenz der Angriffspunkte vor allem durch die blutdrucksenkenden Eigenschaften. Soweit hierüber schon Untersuchungen vorliegen, wurden sie eingangs berücksichtigt. Auch für die blutdrucksteigernde Wirkung kann diese Frage von Bedeutung sein, wie vor allem die Blutdruckwirkung des Coffeins beweist. Nicht nur periphere Angriffspunkte, sondern auch eine differente Verteilung der ansprechbaren Substrate innerhalb des Zentralnervensystems werden dabei zu berücksichtigen sein. Wir werden auf letztere Frage in der folgenden Mitteilung zurückkommen.

Zusammenfassung.

Es wurde bei einer Reihe verschiedenartiger Analeptica an Katzen die Krampfdosis bestimmt und vergleichend die Wirkung auf den Blutdruck gemessen. Zweck der Untersuchungen war, Unterschiede in der Zuverlässigkeit der Wirkung, in dem Abstand zwischen blutdruckwirksamer und

krampfmachender Dosis sowie qualitative Besonderheiten in der Wirkung auf den Blutdruck festzustellen. Um die durch die Versuchsbedingungen gegebenen Unsicherheiten auszuschalten und die Unterschiede deutlich zur Darstellung zu bringen, wurde in jedem Versuch das in der vorausgehenden Arbeit genauer untersuchte Cardiazol als Vergleichsanalepticum mitgeprüft. Die Versuche wurden an Katzen mit durchschnittenen Vagi und abgeklemmten Carotiden zur Ausschaltung der Pressoreceptoren in Chloralosenarkose durchgeführt. Die Ergebnisse sind:

1. Azoman: Die Krampfwirkung entsprach dem 7,5fachen und die Blutdruckwirkung dem zehnfachen der Cardiazolwirkung. Die Blutdruckkurve zeigte denselben Verlauf wie nach Cardiazol.

2. Hexeton: Krampfmachende und blutdrucksteigernde Wirkung entsprachen dem $3^1/_2$fachen der Cardiazolwirkung. Der Blutdrucksteigerung ging stets eine ausgeprägte Blutdrucksenkung voraus.

3. Coffein: Die Krampfdosis, die von uns nicht bestimmt wurde, liegt nach Angaben der Literatur wesentlich höher als bei Cardiazol. Trotzdem ergab Coffein, in gleichen Dosen wie Cardiazol gegeben, einen gleichen blutdrucksteigernden Effekt. Der Blutdrucksteigerung ging stets eine sehr steile und tiefe, aber auffallend rasch vorübergehende Blutdrucksenkung voraus.

4. Theophyllin: Die Blutdruckkurve entsprach derjenigen des Coffeins. Die blutdrucksteigernde Wirkung ist fünfmal geringer als diejenige des Cardiazols.

5. Pikrotoxin: Krampf- und blutdrucksteigernde Wirkung übertreffen die Cardiazolwirkung um das 30—35fache. Der Blutdruck steigt bei Verwendung gleichwirksamer Dosen wesentlich langsamer an als unter Cardiazol. Die Wirkung hält etwa zehnmal länger an. Einen raschen Blutdruckanstieg erhält man nur mit Dosen, die schon im Bereich der Krampfdosen liegen können.

6. Strychnin: Die Blutdruckwirkung ist im Bereich nicht krampfmachender Dosen unsicher. Nur ausnahmsweise ist ein pressorischer Effekt von gleicher Stärke in einer 40mal kleineren Dosis als mit Cardiazol ohne Krämpfe zu erhalten. Das entspricht dem Verhältnis der Krampfdosen.

7. Coramin: Die Krampfdosis ist fünfmal größer als diejenige des Cardiazols. Die blutdrucksteigernde Wirkung wird besonders stark durch eine blutdrucksenkende Wirkungskomponente beeinflußt. Die Blutdruckkurve nimmt dabei einen wechselvollen Verlauf, kann mehrfach durch Blutdrucksenkungen unterbrochen sein oder in überwiegender Blutdrucksenkung bestehen, besonders bei höherer Dosis.

8. Neospiran ist fünf- bis sechsmal stärker krampferzeugend als Cardiazol. Kleine Dosen machen häufig nur Blutdrucksenkung. Bei

größeren Dosen kommt eine Blutdrucksteigerung hinzu, die charakteristischerweise stets der Blutdrucksenkung vorausgeht. Dazu kommt noch ein auffallend steiler Anstieg des Blutdrucks, der aber von kurzer Dauer ist und ohne Plateaubildung anschließend in die Senkung übergeht.

9. Cycliton: Krampfwirkung ist dreimal geringer als beim Cardiazol. Die Blutdruckwirkung wurde nur wenig geprüft. Es zeigten sich mit kleinen Dosen nur Blutdrucksenkungen.

10. Die Ergebnisse lassen erkennen, daß die blutdruckwirksamen Dosen von Cardiazol, Pikrotoxin, Hexeton und mit einer kleinen Abweichung auch von Azoman in dem gleichen Verhältnis wie die krampfmachenden Dosen zueinander stehen. Für diese muß offenbar derselbe Abstand zwischen krampfmachender und blutdrucksteigernder Dosis angenommen werden. Wesentlich größer ist dagegen der Abstand beim Coffein. Am ungünstigsten liegen die Verhältnisse beim Strychnin. Die Wirkung des Strychnins auf den Blutdruck ist zudem im Gegensatz zu den bisher genannten Stoffen ausgesprochen unsicher. Unsicher ist die blutdrucksteigernde Wirkung auch beim Coramin, Neospiran und Cycliton, da hier starke blutdrucksenkende Wirkungen interferieren.

Weiterhin unterstreichen die Befunde erneut die Tatsache, daß den Analepticis zum Teil verschiedene Angriffspunkte zukommen, deren Beachtung auch praktische Bedeutung haben muß.

Für diese Untersuchungen wurde uns Cardiazol von der Firma Knoll, Ludwigshafen, Azoman von der Firma Boehringer Sohn, Nieder-Ingelheim a. Rh., und Neospiran von der Chemischen Fabrik Grünau, Berlin-Grünau, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Vergleichende Untersuchungen über die Krampf- und Blutdruckwirkung einiger Analeptica an dekapitierten Katzen.

Von
Fritz Hahn.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1941.)

Die unter dem einheitlichen Namen Analeptica zusammengefaßten Stoffe lassen entsprechend ihrer chemischen Vielgestaltigkeit bei näherer Analyse auch mancherlei Unterschiede im Wirkungsbild erkennen. Dies deutet darauf hin, daß die einzelnen Stoffe nicht die gleichen Angriffspunkte im Körper vorfinden bzw. daß zu den allen gemeinsamen Angriffspunkten noch solche hinzukommen, die nur für einzelne Stoffe charakteristisch sind. So haben wir uns in der vorausgehenden Arbeit [1] mit Erscheinungen beschäftigt, die auf differente Angriffspunkte außerhalb des Zentralnervensystems bezogen werden können. Es handelt sich um die blutdrucksenkende Eigenschaft mancher Analeptica, die auf Beziehungen zu Elementen in der Kreislaufperipherie oder am Herzen hindeuten.

Wichtig noch erscheint die Frage, ob nicht auch innerhalb des Zentralnervensystems trotz der charakteristischen zentralerregenden Allgemeinwirkung aller Analeptica noch eine Differenzierung von Angriffspunkten möglich ist. Bei der Prüfung dieser Frage geht man zweckmäßig von dem allgemeinsten Erregungsphänomen, den Krämpfen, aus. Dabei wird man zunächst die Frage prüfen, von welchen Hauptabschnitten des Zentralnervensystems die durch die Analeptica ausgelösten Krämpfe ihren Ursprung nehmen. Bekanntlich können Krämpfe von allen Abschnitten des Zentralnervensystems, von der Rinde, den subkortikalen Zentren, dem Hirnstamm, der Medulla und dem Rückenmark ausgehen. Daß in der Tat in dieser Hinsicht erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Analepticis bestehen können, beweist etwa das Verhalten des Rückenmarkskrampfgiftes Strychnin und des nach Morita [2] nur von der Hirnrinde aus Krämpfe auslösenden Camphers. Andere Analeptica freilich greifen mehr oder weniger an allen Teilen des Zentralnervensystems an. Doch können auch zwischen diesen noch Unterschiede in den Affinitäten zu den einzelnen Teilen des Zentralnervensystems bestehen. Im folgenden soll diese Frage

[1] Hahn, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck. — [2] Morita, S.: Ebenda **78**, 208 (1915).

an zwei Gruppen von Analepticis untersucht werden, die besondere praktische Bedeutung haben und zum Teil hinsichtlich der praktischen Bewertung Gegenstand heftiger Diskussionen gewesen sind. Es handelt sich einerseits um das Coramin, dem wir das chemisch nahestehende Neospiran an die Seite stellen, und andererseits um das Cardiazol, dem wohl von allen gebräuchlichen Analepticis das Azoman am nächsten steht. Es soll festgestellt werden, welche Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen bestehen. Um von vornherein eine zu weitgehende Differenzierung auszuschalten, soll lediglich die Frage aufgeworfen werden, inwieweit an den durch die aufgeführten Stoffe hervorzurufenden Krämpfen einerseits die höheren Zentren (Gehirn) und andererseits das Rückenmark beteiligt ist.

In dieser Hinsicht verwertbare Angaben gibt es bisher nur für das Cardiazol und Coramin. Es liegen Befunde vor, die Unterschiede zwischen diesen beiden Stoffen in der angedeuteten Richtung erkennen lassen. Hinsichtlich des Coramins kommt Hildebrandt[3] nach Besprechung der Literatur zu der Feststellung, daß es keine besonderen Prädilektionsstellen innerhalb des Zentralnervensystems habe. Gehirn und Rückenmark erscheinen gleich empfindlich. Uhlmann[4] fand nach Halsmarkdurchschneidung an Kaninchen Coramin in nur etwas höheren Dosen als am Ganztier, Kohlhoff[5] sogar in den gleichen Dosen wie am Ganztier krampferzeugend. Dagegen konnte Schoen[6] ebenfalls an Rückenmarkskaninchen mit Cardiazol nicht das Bild der schweren Krämpfe auslösen. Das würde bedeuten, daß an dem Zustandekommen der Coraminkrämpfe in wesentlich stärkerem Maße eine Erregung des Rückenmarks beteiligt ist als an dem Zustandekommen der Cardiazolkrämpfe. Tatsächlich fanden Kohn und Jakobi[7] an Ratten, daß die Coraminkrämpfe einen mehr spinal-reflektorischen als cerebralen Charakter haben im Gegensatz zu dem rein cerebralen Charakter der Cardiazolkrämpfe.

Sollte diesen Beobachtungen eine allgemeine Gesetzmäßigkeit zugrunde liegen, so muß erwartet werden, daß auch an anderen Tierarten ein gleiches Verhalten festzustellen ist. Am Rückenmark der Katze fand jedoch Blume[8] sowohl Coramin als auch Cardiazol wirksam. Er betont daher die enge pharmakologische Verwandtschaft von Gehirn und Rückenmark, und Hildebrandt[3] zieht aus den Untersuchungen Blumes den Schluß, daß die Empfindlichkeit des Rückenmarks der Katze für Cardiazol nicht wesentlich geringer zu sein scheine als die der höheren Zentren.

Angesichts der erwähnten Befunde an Kaninchen und Ratten haben wir uns aber die Frage gestellt, ob nicht doch auch bei Katzen ein meßbarer Unterschied zwischen Cardiazol und Coramin in der Affinität zum Rückenmark festzustellen sei. Wir wurden bestärkt in dieser Annahme durch die

[3] Hildebrandt, F.: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk **5**, 151 (1937). — [4] Uhlmann, Fr.: Z. exper. Med. **43**, 556 (1924). — [5] Kohlhoff, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 331 (1928). — [6] Schoen, R.: Ebenda **113**, 257 (1926). — [7] Kohn, R., u. M. Jacobi: Ebenda **179**, 448 (1935). — [8] Blume, W.: Ebenda **116**, 234 (1926).

von Blume selbst für seine dekapitierten Katzen angegebenen Krampfdosen. Blume fand 20 mg/kg Cardiazol und 50 mg kg Coramin krampferzeugend. Nun standen freilich bisher keine Angaben über die an intakten Katzen wirksamen Krampfdosen zur Verfügung. Diese sind aber von uns inzwischen ermittelt worden und betragen 11 mg kg für Cardiazol und 55 mg kg für Coramin. Daraus ergibt sich, daß die wirksamen Dosen von Coramin am Ganztier und am isolierten Rückenmark nicht wesentlich verschieden voneinander sind, daß sie dagegen für Cardiazol am isolierten Rückenmark fast doppelt so hoch liegen wie am Ganztier.

Nun darf man aber nach unserer Meinung nicht ohne weiteres aus diesem Befund den an sich naheliegenden Schluß ziehen, daß die Empfindlichkeit des Rückenmarks und des Gehirns für Coramin gleich groß sei, während die Empfindlichkeit des Rückenmarks für Cardiazol nur etwa halb so groß sei wie diejenige des Gehirns. Denn das würde voraussetzen, daß die an dekapitierten Tieren ermittelten Krampfdosen auch für das unter normalen Bedingungen stehende Rückenmark Gültigkeit haben. Das ist aber zweifelhaft. Denn die Empfindlichkeit des Rückenmarks kann durch die Dekapitation in nicht genau bestimmbarer Weise verändert sein. Sie kann durch Schockerscheinungen vermindert und durch die Blutdrucksenkung je nach ihrem Ausmaß herauf- oder herabgesetzt sein (Koll[9]). Der Wegfall des Gehirns als giftbindendes Organ, die Einengung des Blutkreislaufs, die Verlangsamung der Kreislaufgeschwindigkeit und Blutverluste kommen hinzu, um die Dosenbestimmung ungenau zu machen. Bei dieser Sachlage erscheint an dem mitgeteilten Ergebnis nur die eine Tatsache einwandfrei verwertbar, daß die Krampfdosis des Cardiazols an dekapitierten Tieren stärker von der Krampfdosis des intakten Tieres abweicht, als es bei Coramin der Fall ist. Daraus ergibt sich am Rückenmark ein anderes Wirkungsverhältnis beider Stoffe als am Ganztier und somit auch an den höheren Zentren. Und zwar verhalten sich nach den aufgeführten Befunden die wirksamen Dosen von Coramin zu Cardiazol wie 5 : 1 am Ganztier und wie $2^1/_2$: 1 am Rückenmark. Aus diesem Ergebnis kann nur der allgemein gehaltene Schluß abgeleitet werden, daß sich vom Gehirn zum Rückenmark absteigend die Empfindlichkeit der nervösen Substanz zugunsten des Coramins verschiebt.

Man wird aber auch dieses Ergebnis nur dann als gesichert ansehen können, wenn die Angaben über das Wirkungsverhältnis beider Stoffe am Ganztier und am Rückenmark wirklich exakt fundiert sind. Denn der Unterschied scheint nicht sehr erheblich zu sein. Vor allem muß man Bedenken haben hinsichtlich der Genauigkeit des aus den Krampfdosen an dekapitierten Tieren errechneten Verhältnisses. Denn die oben angeführten Faktoren, die die Genauigkeit der Dosenbestimmung an dekapitierten Tieren beeinflussen, sind variabler Natur und dürften eine größere

[9] Koll, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 365 (1937).

Streuung bedingen. Dies fällt dann ins Gewicht, wenn an verschiedenen Katzen gefundene Resultate miteinander verglichen werden. Wir haben daher, um diese Frage noch einmal zu prüfen, einen genaueren Weg eingeschlagen, indem wir das Verhältnis der Krampfdosen von Coramin und Cardiazol an ein und derselben dekapitierten Katze bestimmten. Darüber soll im folgenden berichtet werden. Gleichzeitig wurden die neueren Analeptica Neospiran und Azoman mit in die Untersuchung einbezogen, wobei wir die Vermutung hatten, daß ersteres sich dem Coramin und letzteres sich dem Cardiazol ähnlich verhalte.

Sollte die Annahme zutreffen, daß an der Gesamtwirkung einiger Analeptica das Rückenmark stärker beteiligt ist als bei anderen Analepticis, so muß dies auch an anderen Wirkungen als den Krämpfen zum Ausdruck kommen. Es wäre dabei vor allem an die Blutdruckwirkungen zu denken. Bekanntlich existieren im Rückenmark ebenfalls vasomotorische Zentren. Wenn diese zwar im Vergleich zu dem medullären Zentrum von untergeordneter Bedeutung sind, so ist es doch möglich, daß ihre Erregung durch einen Stoff, der eine besonders große Affinität zum Rückenmark hat, für das Zustandekommen der Blutdrucksteigerung eine nicht zu vernachlässigende Bedeutung hat. Jedenfalls hat dies Langley[10] für das Strychnin angenommen. Wir hielten es für möglich, daß die stärkere Beteiligung des Rückenmarks an der Blutdruckwirkung eines Analepticums sogar zu einer Veränderung im Charakter der Blutdrucksteigerung bei der Prüfung am Ganztier führen könne. Wir dachten dabei hauptsächlich an die Besonderheit, die die blutdrucksteigernde Wirkung des Neospirans, die in der vorausgehenden Arbeit [1] geschildert wurde, erkennen ließ. Ein Unterschied in der Affinität zu den vasomotorischen Zentren des Rückenmarks zwischen zwei Analepticis müßte sich wiederum wie bei der Krampfwirkung dadurch zu erkennen geben, daß das Verhältnis der blutdrucksteigernden Dosen beider Stoffe am Rückenmark anders wäre als am Ganztier, wo die Funktion des medullären Zentrums hinzukommt. Für die hier zur Diskussion stehenden Analeptica ist aber diese Frage nicht zu prüfen. Denn in der vorausgehenden Arbeit haben wir gezeigt, daß sich am Ganztier die blutdrucksteigernde Wirkung von Coramin und Neospiran nicht genau messen läßt, weil starke blutdrucksenkende Wirkungen störend interferieren. Am dekapitierten Tier lassen sich aber solche Versuche durchführen, wie wir im folgenden sehen werden, weil der geringe Ausgangsblutdruck die blutdrucksenkenden Wirkungen stärker in den Hintergrund treten läßt. Ohne Kenntnis des Wirkungsverhältnisses am Ganztier mußten wir uns daher darauf beschränken, lediglich am Rückenmark das Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen von Coramin und Neospiran einerseits und Cardiazol und Azoman andererseits zu messen. Immerhin gewinnt auch das dabei erhaltene Ergebnis an Interesse, wenn man sich die Frage vorlegt, ob das

[10] Langley, J.: J. Physiol. (Brit.) **53**, 120 (1919/20).

am Rückenmark gefundene Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen dem Verhältnis der dort ermittelten Krampfdosen entspricht. Denn es wäre damit wenigstens bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich gemacht, daß die stärkere Affinität einiger Analeptica zum Rückenmark sich auch auf die vasomotorischen Zentren erstreckt.

Zudem interessierte uns die Frage nach der blutdrucksteigernden Wirkung der hier untersuchten Analeptica am Rückenmarkstier auch deshalb, weil über sie so gut wie nichts bekannt ist. Es wird vielmehr im allgemeinen das Fehlen einer blutdrucksteigernden Wirkung dieser Analeptica nach Ausschaltung des Vasomotorenzentrums betont, so z. B. für das Cardiazol von Eichler und Hildebrandt[11] und Zinnitz und v. Bergmann[12]), für das Coramin ebenfalls von Zinnitz und v. Bergmann, für das Neospiran von Nakazawa[13]. Inwieweit dies aber eine Frage der Dosierung ist und welche weiteren Eigentümlichkeiten die Blutdruckwirkung der Analeptica an dekapitierten Katzen hat, werden wir im folgenden beschreiben.

Während bisher die Frage im Vordergrund stand, wie sich die Angriffspunkte der einzelnen Analeptica auf die beiden Hauptabschnitte des Zentralnervensystems verteilen, nämlich auf Gehirn und Rückenmark, kann auch noch das Problem aufgeworfen werden, ob auch innerhalb eines Abschnittes, beispielsweise des Rückenmarks, noch unterschiedliche Angriffspunkte anzunehmen sind. Eine kurze Mitteilung von Koll[14] besagt, daß ein am Rückenmark feststellbarer gegenseitiger Synergismus von Coramin und Cardiazol für eine Verschiedenartigkeit von Angriffspunkten beider Stoffe im Rückenmark spreche. Als wir, angeregt durch die Feststellungen Kolls, auch diese Frage ins Auge faßten, dachten wir an die Möglichkeit, daß sich die ungleichen Angriffspunkte verschiedenartiger Analeptica vielleicht durch unterschiedliche Narkoseempfindlichkeit auszeichneten und somit durch geeignete Narkotisierung des Rückenmarks zu differenzieren seien. Wir haben daher in besonderen Versuchen auch die Beeinflussung der Krämpfe und insbesondere der Blutdruckwirkung der hier untersuchten Analeptica durch Narkose untersucht.

Methodik.

Katzen wurden nach der von Storm van Leeuwen[15] beschriebenen Methode in Äthernarkose dekapitiert. Nach einer zur Abatmung des Äthers und zur Überwindung der Schockerscheinungen notwendigen Frist von etwa 2 Stunden wurde mit der vergleichenden Prüfung der Analeptica begonnen. Es wurde bei intravenöser Injektion die Krampfwirkung bestimmt. Gleichzeitig wurde der Blutdruck mit dem Hg-Manometer unter Verwendung der Trendelenburgschen Gegenstromapparatur registriert. Es wurden jeweils 2 Analeptica miteinander verglichen. Diese wurden abwechselnd oder auch in anderer Reihenfolge bald in größeren, bald in kleineren Abständen wiederholt injiziert, um so das Ergebnis in jeder Hinsicht

[11] Eichler, O., u. F. Hildebrandt: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 110 (1926). — [12] Zinnitz, F., u. F. v. Bergmann: Ebenda **181**, 335 (1936). — [13] Nakazawa, Y.: Fol. pharmacol. jap. **28**, 80 (1940). — [14] Koll, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 166 (1936). — [15] Storm van Leeuwen, W.: Handb. d. biolog. Arb.-Meth. IV, 7, B.

sicherzustellen. Im ganzen dauerten die Versuche mindestens 10 Stunden. Insgesamt wurden 9 Versuche dieser Art durchgeführt. Das Gewicht der Katzen betrug 2,6—3,6 kg. Der Blutdruck belief sich nach der Dekapitierung auf 38—56 mm Hg. In 8 weiteren Versuchen waren die Katzen zur Ausschaltung der Krämpfe und zur Registrierung des reinen Blutdruckeffektes curarisiert*. Gewicht der Katzen 2,2 bis 3,5 kg. Blutdruck 40—50 mm Hg. In 9 Versuchen schließlich wurden die Katzen in Chloralosenarkose (75 mg/kg) dekapitiert. Gewicht 1,7—3,6 kg. Blutdruck 30—75 mm Hg. Zur Dosierung wurde das Gewicht der Katzen vor der Dekapitierung zugrunde gelegt.

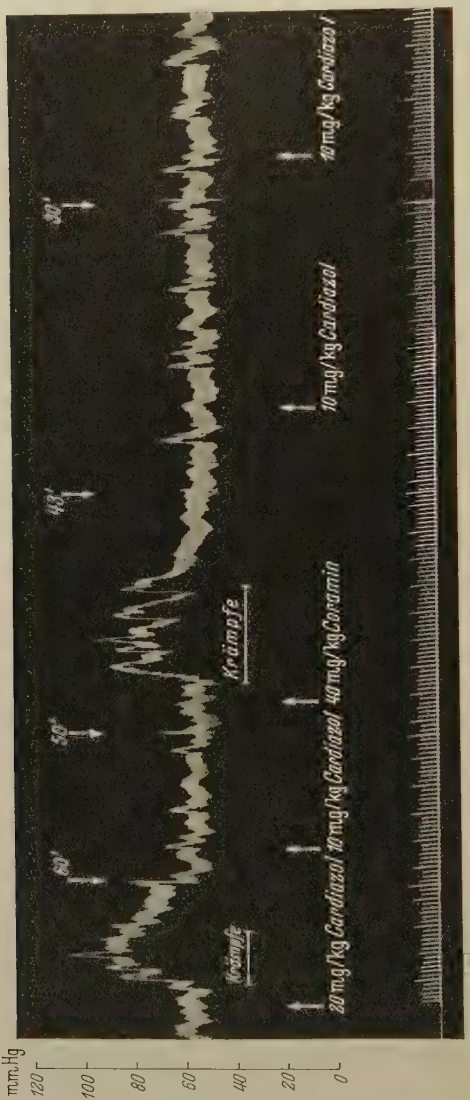


Abb. 1. Katze, 3,6 kg, ♂. Dekapitiert in Äthernarkose. Versuchsausschnitt 7 Stunden später. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

I. Vergleich der Krampf- und Blutdruckwirkung des Coramins mit der Krampf- und Blutdruckwirkung des Cardiazols.

Wir begannen diese Versuche mit einem eingehenden Vergleich von Coramin mit Cardiazol. Wie auseinandergesetzt wurde, wollten wir feststellen, ob das Wirkungsverhältnis beider Stoffe eindeutig zugunsten des Coramins am Rückenmark verschoben sei. Am Ganztier sind zur Auslösung von Krämpfen fünfmal höhere Coramindosen als Cardiazoldosen erforderlich. Am Rückenmark müßte nach unserer Voraussetzung bei diesem Dosenverhältnis das Coramin überlegen sein. Das ist auch tatsächlich der Fall. Bei geeigneter Grenzdosierung (Angaben über Dosen folgen weiter unten) gelang es uns festzustellen, daß bei diesem Dosenver-

* Verwendet wurde Curare „Merck" hochwirksam in Dosen von 2—5 mg/kg mehrfach im Verlaufe des Versuchs.

hältnis nur Coramin, nicht Cardiazol Krämpfe auslöst. Dies war auch noch der Fall, wenn die Coramindosen nur viermal größer als die Cardiazoldosen waren. Erst wenn die Cardiazoldosis so stark vergrößert wurde, daß sie mindestens die Hälfte der Coramindosis erreichte, wurden auch durch Cardiazol Krämpfe hervorgerufen. Die Anlage eines solchen Versuchs ergibt sich aus Abb. 1, wo wir einen Versuchsausschnitt wiedergeben. Somit verschiebt sich das Verhältnis der Krampfdosen von Coramin zu Cardiazol, das am Ganztier 5 : 1 beträgt, am dekapitierten Tier auf 2 : 1. Dies bestätigt nicht nur unsere Erwartung, sondern ergibt eine Abweichung des Dosenverhältnisses am Rückenmark, die noch etwas größer ist als wir auf Grund der Versuche Blumes vorausberechnet hatten.

Coramin hat also in der Tat im Vergleich zum Cardiazol eine größere Affinität zum Rückenmark. Diese Aussage hat jedoch einen unbestimmten Charakter. Denn es bleibt offen, ob z. B. die Empfindlichkeit des Zentralnervensystems vom Gehirn zum Rückenmark absteigend für Coramin zu- und für Cardiazol abnimmt oder ob die Empfindlichkeit für beide abnimmt, nur für Cardiazol mehr als für Coramin, oder ob andere, ebenfalls noch denkbare Möglichkeiten zutreffend sind. Vor allem für Coramin muß die Frage nach dem Unterschied in der Empfindlichkeit höherer und niederer Zentren offenbleiben. Eine Berücksichtigung der absoluten Krampfdosen des dekapitierten Tieres und ein Vergleich derselben mit den Krampfdosen des intakten Tieres bringt uns nicht weiter, da wir, wie eingangs ausgeführt, Bedenken gegen die Übertragung der an dekapitierten Katzen ermittelten Krampfdosen auf die Verhältnisse des intakten Organismus haben. Daß dies tatsächlich richtig ist, wurde durch unsere Versuche bestätigt. Wir stellten nämlich fest, daß die minimalen Krampfdosen an dekapitierten Katzen 30—40 mg/kg Coramin betrugen. Diese Werte liegen unter der minimalen Krampfdosis des intakten Tieres (55 mg/kg). Offenbar erhält man an dekapitierten Katzen zu niedrige Werte, die nicht die Empfindlichkeit des unter normalen Bedingungen stehenden Rückenmarks wiedergeben.

Interessanterweise waren aber die Krampfdosen von Cardiazol an dekapitierten Katzen größer als an intakten Katzen. Sie betrugen 15 bis 20 mg/kg statt 11 mg/kg. Schließt man aus dem Verhalten des Coramins, daß auch diese für Cardiazol an dekapitierten Katzen ermittelten Dosen zu niedrig sind, d. h. daß unter normalen Verhältnissen am Rückenmark noch höhere Dosen, die also noch über 20 mg/kg liegen, erst Krämpfe auszulösen vermögen, so läßt sich immerhin für Cardiazol wenigstens eine bestimmte Aussage machen. Es läßt sich nämlich folgern, daß die Krämpfe, die Cardiazol am intakten Tier schon mit 11 mg/kg auszulösen vermag, nicht vom Rückenmark, sondern von den höheren Zentren ausgehen und daß die Empfindlichkeit der höheren Zentren für Cardiazol mehr als doppelt so groß sein muß wie die Empfindlichkeit des Rückenmarks.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß sich das Wirkungsverhältnis von Coramin zu Cardiazol am Rückenmark zugunsten des Coramins verschiebt. Im Vergleich zum Cardiazol muß also Coramin eine größere Affinität zum Rückenmark haben. Aber es bleibt offen, wie groß der Unterschied in der Empfindlichkeit der höheren und niederen Zentren für Coramin ist und in welcher Richtung er liegt. Für Cardiazol dagegen können wir annehmen, daß die Empfindlichkeit der höheren Zentren mehr als doppelt so groß ist wie die Empfindlichkeit des Rückenmarks.

Lassen sich nun ähnliche Feststellungen auch an Hand der Blutdruckwirkung der beiden Analeptica treffen? Wir haben zur Beantwortung dieser Frage zunächst zu prüfen, welche Blutdruckwirkung diese beiden Analeptica überhaupt an der dekapitierten Katze haben. Wie Abb. 1 erkennen läßt, können sowohl durch Coramin wie durch Cardiazol an der dekapitierten Katze Blutdrucksteigerungen ausgelöst werden. Aber diese Blutdrucksteigerungen stehen in deutlichem Zusammenhang mit den Krämpfen. Liegen die Dosen unter der Krampfschwelle, so treten im allgemeinen auch keine Blutdrucksteigerungen auf. Jedenfalls ist uns der Nachweis von Blutdrucksteigerungen ohne Krämpfe nur ausnahmsweise gelungen. Wohl aber haben wir häufiger beobachtet, daß die Blutdrucksteigerungen die Krämpfe noch erheblich überdauern können.

Da es nach dieser Sachlage unklar bleiben mußte, ob es eine eigene, nicht indirekt durch Krämpfe bedingte konstante blutdrucksteigernde Wirkung der Analeptica am Rückenmark gibt, mußten wir zur weiteren Analyse Curare zur Ausschaltung der Krämpfe heranziehen. Gaben wir nun Katzen, die ausreichend curarisiert waren, die Analeptica in Dosen, die sicher innerhalb des Größenbereichs der Dosen lagen, die an nicht curarisierten Katzen Krämpfe machten, so gelang es uns, ohne Krämpfe regelmäßig Blutdrucksteigerungen auszulösen, wie Abb. 2 erkennen läßt, Diese Blutdrucksteigerungen waren sogar auffallend groß und übertrafen meist erheblich die an nicht curarisierten Katzen auftretenden Blutdruckeffekte. Es hat geradezu den Anschein, als ob die Krämpfe der vollen Entwicklung von Blutdrucksteigerungen hinderlich wären. Wir werden weiter unten eine Beobachtung mitteilen, die diese Möglichkeit stützt. Charakteristisch für die Blutdrucksteigerungen war ferner der außerordentlich plötzliche und steile Anstieg. Schließlich war als Besonderheit festzustellen, daß die Blutdrucksteigerungen ohne Plateaubildung sofort wieder zurückgingen, um allerdings bisweilen, wie Abb. 2 für das Coramin erkennen läßt, noch einmal oder noch mehrmals wieder anzusteigen.

Diesen rhythmischen Blutdruckeffekten, die wir auch bei Azoman und Cardiazol (in größeren Dosen) beobachteten, dürfte ein besonderes Interesse zukommen. Sie kommen vermutlich durch sensibilisierende Einflüsse, die ein erniedrigter Blutdruck auf die Blutdruckwirkung der Analeptica (Anämie des Zentralnervensystems) haben könnte (ähnlich, wie es für die Krampfwirkung schon bekannt war), zustande. Man könnte annehmen, daß diese Sensibilisierung der Zentren für die Analeptica nach Hebung des Blutdrucks verschwindet,

wodurch es zum Abfall des Blutdrucks kommt, worauf sich dann erneut anämische Reizung der Zentren, Anstieg des Blutdrucks und Wiederabfall anschließen usw. Sollte diese Auffassung zutreffen, so würde die Tatsache, daß die Empfindlichkeit der vasomotorischen Zentren für Analeptica von der Höhe des Blutdrucks abhängt, eine neue Wirkungsbedingung der Analeptica kennen lehren.

Diese näher charakterisierte blutdrucksteigernde Wirkung an dekapitierten Katzen hat sowohl Coramin als auch Cardiazol. Wie verhalten sich nun aber die zur Herbeiführung gleich großer Blutdrucksteigerung notwendigen Dosen beider Analeptica zueinander? Stehen sie in dem gleichen Verhältnis zueinander wie die krampfmachenden Dosen? Das Ergebnis unserer Versuche war, daß dies nicht genau zutrifft. Vielmehr war das

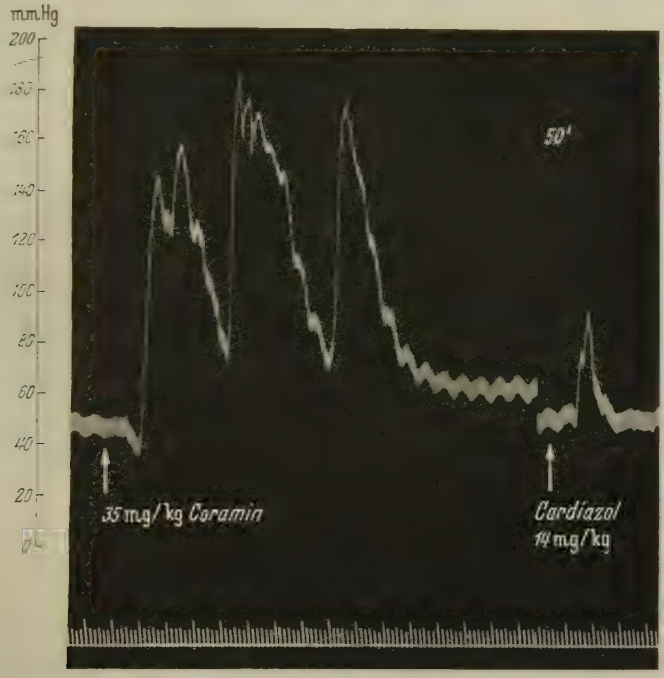


Abb. 2. Katze, 2,9 kg, ♂. Dekapitiert in Äthernarkose. Versuchsausschnitt $6^1/_2$ Stunden später. Vorbehandlung mit Curare. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspause in Minuten.

Verhältnis der Dosen mit gleicher Blutdruckwirkung etwa 1 : 1, während sich in bezug auf die Krampfwirkung die Coramindosen zu den Cardiazoldosen wie 2 : 1 verhielten. Jedenfalls aber ist damit festgestellt, daß sich das Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen weit mehr dem Verhältnis der Krampfdosen am Rückenmark als dem Verhältnis der Krampfdosen am Ganztier, welches 5 : 1 beträgt, anpaßt. Die Abweichung von dem Verhältnis der Krampfdosen am Ganztier ist sogar noch größer, als wir es für die Krampfdosen des dekapitierten Tieres feststellen konnten. Es scheint daher, daß in der Blutdruckwirkung die Affinität des Coramins

zum Rückenmark noch deutlicher zum Ausdruck kommt. Dieser Schluß ist aber nicht zwingend, weil wir das Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen am Ganztier nicht kennen.

Allerdings ist an Kaninchen von Zinnitz und v. Bergmann [12] festgestellt, daß am Ganztier die Blutdruckwirkung des Cardiazols diejenige des Coramins um das Drei- bis Vierfache übertrifft. Von noch größerem Interesse für uns sind die Feststellungen van Elsvelds [16] an decerebrierten Katzen. Soweit aus seinen Mitteilungen zu entnehmen ist, ist das Cardiazol auch an der decerebrierten Katze mit erhaltenem Vasomotorenzentrum

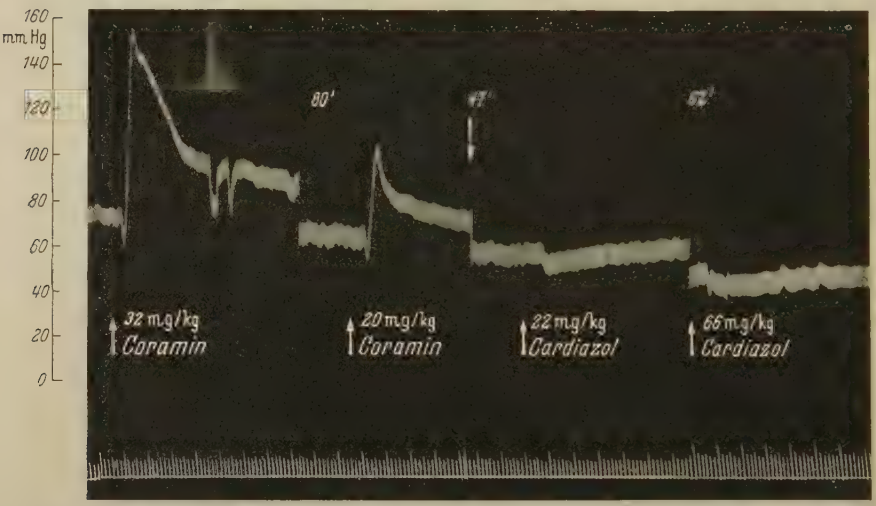


Abb. 3. Katze, 2,45 kg, ♂. Dekapitiert in Chloralosenarkose (70 mg/kg). Versuchsausschnitt $1^1/_2$ Stunden später. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

dem Coramin hinsichtlich der blutdrucksteigernden Wirkung überlegen. Er findet mit 2—14 mg/kg Cardiazol in sieben Versuchen Blutdrucksteigerungen von 22—122 mm Hg und mit 5—20 mg/kg Coramin Blutdrucksteigerungen von nur 3—78 mm Hg in ebenfalls sieben Versuchen. Ein genaues Wirkungsverhältnis ist leider aus diesen Versuchen nicht zu entnehmen. Nimmt man aber jedenfalls die Überlegenheit des Cardiazols bei erhaltenem Vasomotorenzentrum als gegeben an*, so ergibt sich aus unseren Versuchen, daß auch hinsichtlich der Blutdruckwirkung beider Analeptica am Rückenmark eine Abweichung des Wirkungsverhältnisses zugunsten des Coramins festzustellen ist. Es ist also auch an den blutdruckregulierenden Zentren von den höheren Zentren abwärts eine Verschiebung

* In einem Versuch an einer intakten Katze in Chloralosenarkose stellten auch wir fest, daß eine kleine, noch nicht blutdrucksenkend wirkende Coramindosis eine geringfügige Blutdrucksteigerung machte, die erheblich hinter derjenigen nach Injektion einer gleich großen Cardiazoldosis zurückblieb und etwa nur $^1/_3$ bis $^1/_4$ der Cardiazolwirkung betrug.

in der Ansprechbarkeit auf beide Analeptica zugunsten des Coramins nachweisbar.

Ein besonders bemerkenswerter Unterschied zwischen Cardiazol und Coramin hat sich schließlich noch im Verhalten gegenüber Narkose ergeben. Es handelt sich hier um das Ergebnis von Versuchen, in denen die Katzen in Chloralosenarkose dekapitiert waren, in denen also während der Dauer des Versuchs das Rückenmark unter der Wirkung dieses Narkoticums stand. Da die Krampfwirkung abgeschwächt war, bezieht sich unsere Beobachtung nur auf die Blutdruckwirkung der beiden Analeptica. In zwei Versuchen war mit der Krampfwirkung auch die blutdrucksteigernde Wirkung des Coramins sogar gegenüber hohen Dosen (100 mg/kg) erloschen, ebenfalls die blutdrucksteigernde Wirkung des Cardiazols. Coramin machte statt dessen nur Blutdrucksenkung, ganz in Übereinstimmung mit den ähnlich angelegten Versuchen von Zinnitz und v. Bergmann[12]. Aber in einem dritten Versuch traten nach keineswegs sehr hohen Coramindosen steile und hohe Blutdrucksteigerungen auf. Wir geben diesen Versuch in Abb. 3 wieder. Auffallend ist nun aber, daß Cardiazol diese Wirkung nicht hatte, sondern sogar eine geringe Blutdrucksenkung auslöste, und zwar in Dosen die die wirksamen Coramindosen noch um das Mehrfache übertrafen. Dies steht in großem Gegensatz zu dem Verhalten beider Analeptica an der nicht narkotisierten, curarisierten dekapitierten Katze, bei der gleiche Dosen von Coramin und Cardiazol gleich blutdruckwirksam waren. So kommt also zu der geringen Affinität, die das Cardiazol im Vergleich zum Coramin zum Rückenmark hat, noch eine größere Empfindlichkeit gegenüber Narkose hinzu.

Bemerkenswert war an dem mitgeteilten Versuch auch, daß die Blutdrucksteigerungen durch Coramin ohne Krämpfe auftraten, ohne daß Curare gegeben worden war. Offenbar ist also die Blutdruckwirkung weniger empfindlich als die Krampfwirkung, so daß es in der Narkose zu einer Verbreiterung des Abstandes zwischen blutdruckwirksamen und krampfmachenden Dosen kommt. Wir verweisen auf entsprechende Beobachtungen am Ganztier (Hahn[17]). Krämpfe traten in dem Versuch der Abb. 2 erst mit Coramindosen von über 100 mg/kg auf. Dabei machten wir aber noch eine sehr interessante Beobachtung (in der Abb. 2 nicht wiedergegeben). Als wir nämlich zum Schluß des Versuchs 200 mg/kg Coramin injizierten, kam es zu sehr schweren Krämpfen. Solange aber diese Krämpfe in ihrer größten Stärke anhielten, kam es nicht zu einer Blutdrucksteigerung. Erst mit Nachlassen der Krämpfe stieg der Blutdruck langsam an. Es können also die Krämpfe der Blutdrucksteigerung nicht nur, wie allgemein angenommen, förderlich, sondern sogar auch hinderlich sein. Das steht im Einklang mit unserer Beobachtung, daß an curarisierten dekapitierten Katzen die Blutdrucksteigerungen stärker als an nicht curarisierten ausfallen. Wir erinnern ferner an die Blutdrucksenkungen, die nicht selten am Ganztier die Cardiazolkrämpfe begleiten (Hahn[17]).

Hinter der blutdrucksteigernden Wirkung tritt am dekapitierten Tier — wohl wegen des niedrigen Ausgangsblutdrucks — die blutdruck-

[16] van Elsveld, L. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **149**, 348 (1930). — [17] Hahn, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck.

senkende Wirkung des Coramins, die wir am Ganztier genauer beschrieben haben [1], zurück. Sie ist nur nachweisbar, wenn infolge zu niedriger Dosen oder in zu tiefer Narkose die blutdrucksteigernde Wirkung nicht genügend entwickelt ist.

II. Vergleich der Krampf- und Blutdruckwirkung des Neospirans mit der Krampf- und Blutdruckwirkung des Azomans.

Die Erfahrungen, die wir über Coramin und Cardiazol gesammelt haben, sollen im folgenden auf Neospiran und Azoman ausgedehnt werden. Es galt festzustellen, ob das Neospiran dem Coramin und das Azoman dem Cardiazol an die Seite zu stellen sei. Der folgerichtigste Weg wäre gewesen. Coramin mit Neospiran und Cardiazol mit Azoman zu vergleichen. Um

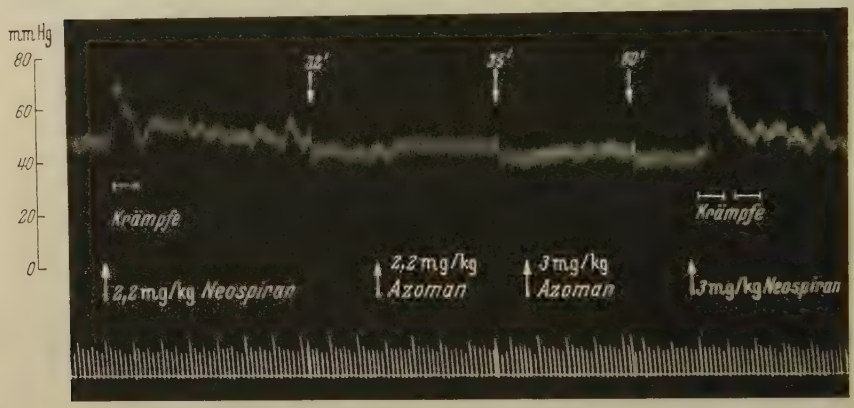


Abb. 4. Katze, 2,7 kg, ♂. Dekapitiert in Äthernarkose. Versuchsausschnitt 4 Stunden später. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten.

die Zahl unserer Versuche etwas einzuschränken, haben wir uns darauf beschränkt, das Wirkungsverhältnis von Neospiran zu Azoman an der dekapitierten Katze zu bestimmen und dann zu prüfen, ob sich eine ähnliche Abweichung von dem Verhältnis am Ganztier ergäbe, wie wir es für Coramin und Cardiazol festgestellt haben. Das Ergebnis war in der Tat eine völlige Übereinstimmung mit den im vorigen Kapitel festgestellten Tatsachen.

Am Ganztier ist Azoman dem Neospiran überlegen. Die minimalen Krampfdosen von Azoman betragen 1,5 mg/kg und von Neospiran 2,0 mg pro kg. Der Unterschied erscheint danach nicht sehr groß. Aber die Überlegenheit des Azomans hat sich in zahlreichen Bestimmungen und vor allem durch mehrfache Auswertung beider Analeptica an der gleichen Katze sicherstellen lassen. Auch an Ratten wurde diese Überlegenheit festgestellt.

An der dekapitierten Katze war nun eindeutig eine Verschiebung in dem Verhältnis der Krampfwirkung beider Analeptica festzustellen. Diese

Verschiebung kam besonders prägnant dadurch zum Ausdruck, daß in strikter Inversion der Verhältnisse am Ganztier am Rückenmarkstier das Neospiran dem Azoman wesentlich überlegen war. Als Beispiel hierfür sei auf Abb. 4 verwiesen, wo Neospiran und Azoman in gleichen Dosen einander gegenübergestellt sind. Während bei diesem Dosenverhältnis am Ganztier das Azoman überlegen gewesen wäre, ist hier das Neospiran stärker wirksam. Da es sich hierbei um eine Grenzdosierung handelte, gelang es nur mit Neospiran Krämpfe hervorzurufen. Weitere Bestimmungen ergaben, daß Azoman erst dann gleich wirksam war, wenn seine Dosis das Doppelte der Neospirandosis betrug.

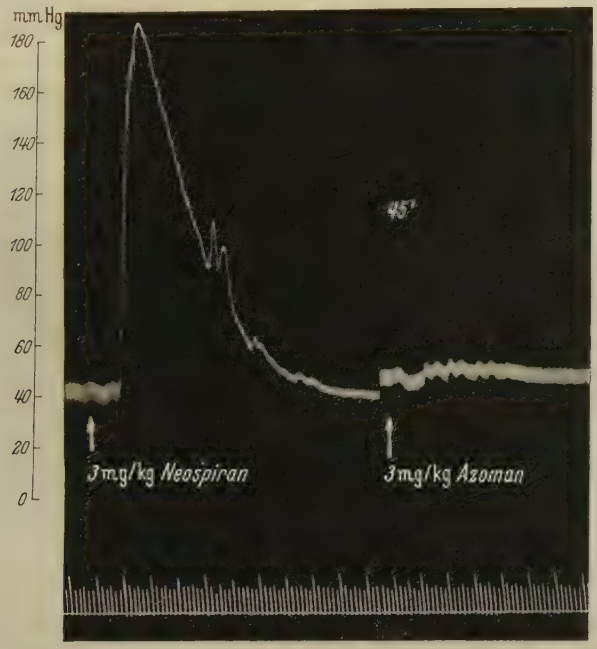


Abb. 5. Katze, 3,35 kg, ♂. Dekapitiert in Äthernarkose. Versuchsausschnitt 6 Stunden später. Vorbehandlung mit Curare. 10 Sekunden. Versuchspause in Minuten.

Auch die Betrachtung der absoluten Krampfdosen läßt den Vergleich mit Cardiazol und Coramin zu. Wenn auch die minimalen Krampfdosen des Neospirans meist nicht so eindeutig im Vergleich zu den minimalen Krampfdosen des intakten Tieres erniedrigt waren, wie es beim Coramin der Fall war, so waren sie doch jedenfalls nicht erhöht. Dagegen waren die Krampfdosen des Azomans stets deutlich — um das Doppelte oder mehr — gesteigert, ähnlich, wie wir es für das Cardiazol festgestellt hatten. Auf Grund ähnlicher Überlegungen, wie sie im vorigen Kapitel angestellt worden sind, können wir daher annehmen, daß die Wirksamkeit des Azomans ähnlich wie diejenige des Cardiazols am Rückenmark um mehr

als die Hälfte abfällt. Dagegen läßt sich der Unterschied in der Empfindlichkeit höherer und niederer Zentren für Neospiran nicht näher beschreiben.

Wir sind daher berechtigt, das Neospiran dem Coramin und das Azoman dem Cardiazol an die Seite zu stellen. Diese Feststellung bezieht sich zunächst auf die Krampfwirkung. Trifft sie nun auch für die Blutdruckwirkung zu? Die Versuche ergaben, daß an der nicht curarisierten dekapitierten Katze sowohl Neospiran als auch Azoman blutdrucksteigernd waren. Jedoch fielen auch diese Blutdrucksteigerungen wie die im vorigen Kapitel beschriebenen Blutdrucksteigerungen nach Coramin und Cardiazol meist mit den Krämpfen zusammen. Wurde aber Curare gegeben, so ließen sich auch mit Neospiran und Azoman Blutdrucksteigerungen ohne Krämpfe erzielen, und zwar mit Dosen, die im Bereich der an nicht curarisierten Katzen krampfmachenden lagen. Diese Blutdrucksteigerungen hatten denselben Charakter wie diejenigen nach Coramin und Cardiazol, d. h. sie waren durch brüsken Anstieg und raschen Wiederabfall ausgezeichnet. Die Bestimmung des Wirkungsverhältnisses von Neospiran und Azoman ergab, daß wie bei der Krampfwirkung bei Verwendung gleicher Dosen das Neospiran eindeutig überlegen bzw. allein wirksam war (Abb. 5). Zur Erzielung gleicher Blutdruckwirkung war aber die zwei- bis dreifache Azomandosis nötig, d. h. noch etwas mehr als zur Erzielung gleich großer Krampfwirkung. In bezug auf die Blutdruckwirkung ist also das Azoman noch etwas mehr als in bezug auf die Krampfwirkung dem Neospiran an der dekapitierten Katze unterlegen. Wir erinnern daran, daß auch die Untersuchung von Coramin und Cardiazol an der dekapitierten Katze ergab, daß das Verhältnis der Krampf- und Blutdruckwirkung beider Analeptica nicht genau übereinstimmte, sondern daß das Verhältnis der Blutdruckwirkung eine leichte Verschiebung zugunsten des Coramins erkennen ließ. So finden wir wiederum die gleichen Verhältnisse bei der Gegenüberstellung von Neospiran und Azoman wie bei der Gegenüberstellung von Coramin und Cardiazol, und zwar so, daß das Neospiran die Stelle des Coramins und das Azoman die Stelle des Cardiazols einnimmt.

Leider sind wir aber bezüglich Neospiran und Azoman noch weniger in der Lage, etwas Genaues über das Verhältnis der Blutdruckwirkung beider Stoffe am Ganztier auszusagen. Aber eine andere Beobachtung erscheint uns von Interesse. Der Verlauf der Blutdruckkurve nach Neospiran am dekapitierten Tier ähnelt nämlich auffallend dem Verlauf der Blutdruckkurve am Ganztier (vgl. vorausgehende Mitteilung [1]). Wir fanden auch am Ganztier auffallend raschen Anstieg und sofortigen Wiederabfall des Blutdrucks. Da die anderen Analeptica wie auch das Azoman die gleiche Wirkung wie Neospiran am dekapitierten Tier, nicht aber am Ganztier haben, liegt der Gedanke nahe, daß der rasche und eigentümliche Blutdruckeffekt des Neospirans am Ganztier der Ausdruck einer Rückenmarkswirkung ist oder jedenfalls unter wesentlicher Beteiligung des Rückenmarks zustande kommt, während sich diese Rückenmarkswirkung bei den

anderen Analepticis am Ganztier nicht durchzusetzen vermag. So käme also die im Vergleich zum Azoman größere Affinität des Neospirans zum Rückenmark auch qualitativ im Wirkungsbild am Ganztier zum Vorschein. Indirekt wäre damit aber auch ein Hinweis darauf gegeben, daß das Azoman zu den höheren blutdruckregulierenden Zentren eine größere Affinität hat als zu den Zentren des Rückenmarks. Letzten Endes wäre also auch für die Blutdruckwirkung ähnlich wie für die Krampfwirkung von den höheren zu den niederen Zentren abwärts eine Verschiebung in der Empfindlichkeit der nervösen Elemente zugunsten des Neospirans anzunehmen, ähnlich wie zwischen Coramin und Cardiazol eine Verschiebung zugunsten des Coramins festzustellen war.

Auch hinsichtlich der Beeinflußbarkeit durch Narkose besteht zwischen Azoman und Neospiran der gleiche Unterschied wie zwischen Cardiazol

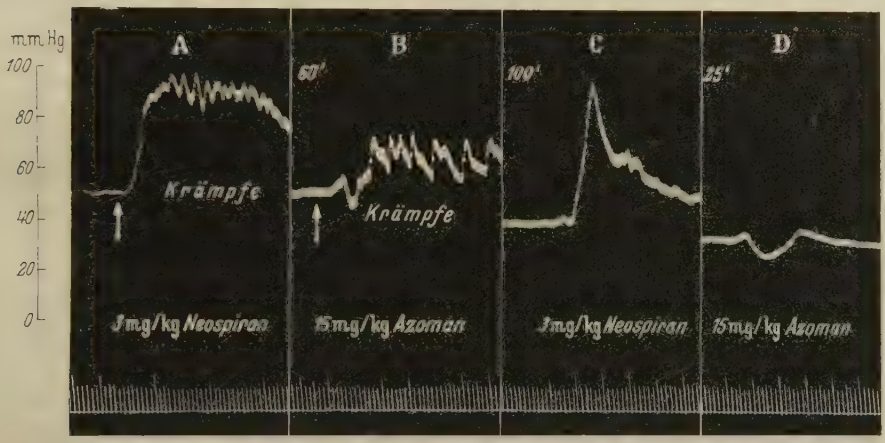


Abb. 6. Katze, 3,2 kg, ♂. Dekapitiert in Chloralosenarkose (80 mg/kg). Versuchsausschnitt 4 Stunden später. Zeit in 10 Sekunden. Versuchspausen in Minuten. Nach *B* wurde die Narkose mit 25 mg/kg Chloralose vertieft.

und Coramin. In dem Versuch, der in Abb. 6 dargestellt ist, waren zunächst in nicht sehr tiefer Narkose sowohl mit Neospiran als auch mit Azoman Krämpfe auszulösen, die mit Blutdrucksteigerung einhergingen. Allerdings fällt schon auf, daß dabei im Vergleich zum Neospiran fünffach höhere Azomandosen nötig waren. In der zweiten Hälfte des abgebildeten Versuchs war aber die Narkose zusätzlich vertieft worden. Jetzt ist nur noch Neospiran wirksam. Und zwar kommt es zu einer starken Blutdrucksteigerung ohne Krämpfe. Es ist also auch hier durch die Narkose wieder eine Verbreiterung des Abstandes von blutdruckwirksamer und krampfmachender Dosis eingetreten. Im Gegensatz hierzu ist die Blutdruckwirkung selbst fünffach höherer Azomandosen ausgelöscht. Es ist also die Blutdruckwirkung des Azomans in ähnlichem Maße empfindlicher als die Blutdruckwirkung des Neospirans gegenüber Narkose, wie es die Blutdruckwirkung

des Cardiazols im Vergleich zur Blutdruckwirkung des Coramins war. So ist also bis in alle Einzelheiten die Übereinstimmung der in diesem Abschnitt besprochenen Versuche mit den im vorigen Kapitel besprochenen offenbar.

Zusammenfassend ergibt sich daher, daß Neospiran und Coramin entsprechend ihrer Sonderstellung als alkylierte Säureamide auch pharmakologisch eine besondere Gruppe von Analepticis darstellen, die sich deutlich von der chemisch weit abstehenden Gruppe des Azomans und Cardiazols unterscheidet. Der Unterschied besteht darin, daß sich offenbar die Angriffspunkte für diese beiden Gruppen auf die einzelnen Hauptabschnitte des Zentralnervensystems nicht in denselben Proportionen verteilen. Vielmehr treten in dem Verteilungsverhältnis der Angriffspunkte auf höhere und niedere Zentren in der Gruppe der alkylierten Säureamide die niederen Zentren stärker hervor als in der anderen Gruppe. Für Cardiazol und Azoman erscheinen die höheren Zentren zudem nicht nur im Vergleich zu der anderen Gruppe, sondern auch absolut empfindlicher als die niederen Zentren. Eine weitere Differenzierung ließ sich durch die Narkose für die Angriffspunkte innerhalb des Rückenmarks durchführen, wobei wiederum die größere Affinität der alkylierten Säureamide zum Rückenmark zur Geltung kam.

Die blutdrucksenkenden Eigenschaften des Neospirans waren wie die gleichen Eigenschaften des Coramins an der dekapitierten Katze weniger ausgeprägt als an dem intakten Tier. Sie waren nur bei kleinen Dosen, die keine ausgesprochene Blutdrucksteigerung machten, nachweisbar. Wir fanden, daß die blutdrucksenkenden Eigenschaften des Neospirans schwächer als diejenigen des Coramins sind. Jedenfalls trifft dies zu, wenn man Dosen miteinander vergleicht, die zueinander im Verhältnis der Krampfdosen stehen. Das Neospiran hat daher im Verhältnis zur zentralerregenden Wirkung eine geringere blutdrucksenkende Wirkung als das Coramin.

Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse.

Die mitgeteilten Befunde gewähren einen tieferen Einblick in pharmakologische Unterschiede praktisch wichtiger Analeptica. Bekanntlich ist die Frage, welches Analepticum klinisch zu bevorzugen sei, schon öfter Gegenstand von Diskussionen gewesen. Wir glauben, daß durch eingehende Analyse der Angriffspunkte und des Wirkungsmechanismus dieser Frage ebenso gedient ist wie beispielsweise durch vergleichende Messung der Weckwirkung.

Das wesentliche Ergebnis dieser Versuche ist die Feststellung, daß sich die untersuchten Analeptica dadurch unterscheiden, daß sich ihre Wirkung nicht in demselben Verhältnis auf die einzelnen Teile des Zentral-

nervensystems erstreckt. Die alkylierten Säureamide Coramin und Neospiran bilden eine Gruppe mit stärkerer Betonung des Rückenmarks als Angriffsort im Vergleich zu einer zweiten Gruppe, in die man das Cardiazol und das Azoman einreihen kann.

Dieses Verhalten ist wohl am ehesten so zu verstehen, daß die Angriffspunkte beider Gruppen an den Einzelelementen des Zentralnervensystems nicht identisch oder nicht völlig identisch sind. Es sind differente Angriffspunkte vorhanden, die sich über das ganze Zentralnervensystem hin nicht gleichsinnig verteilen, sondern so, daß die besonderen Angriffspunkte des Coramins und des Neospirans sich stärker auf das Rückenmark ausdehnen als die besonderen Angriffspunkte des Cardiazols und Azomans. Auch das unterschiedliche Verhalten beider Gruppen gegenüber der Einwirkung der Narkose möchten wir am ehesten so deuten, daß im Rückenmark unterschiedliche Angriffspunkte mit differenter Narkoseempfindlichkeit vorhanden sind und daß es sich nicht um einen unterschiedlichen Antagonismus von Narkoticum und Analepticum am gleichen Angriffspunkt handelt. Wir stützen uns hierbei auf die Auffassungen, die Koll[14] entwickelt hat, der auch auf Grund eines gegenseitigen Synergismus von Cardiazol und Coramin für beide Stoffe nicht identische Angriffspunkte im Rückenmark annimmt.

Diese Feststellungen beziehen sich auf die Krampf- und Blutdruckwirkung. Hinsichtlich der blutdrucksteigernden Wirkung der Analeptica, die wir an dekapitierten Katzen näher untersucht haben, müssen wir allerdings einem Einwand begegnen. Es fehlt in unseren Versuchen eine eingehendere Begründung dafür, daß diese blutdrucksteigernde Wirkung überhaupt durch zentrale Reizung vasomotorischer Zentren und nicht durch periphere Einflüsse zustande kommt. Doch können wir die Tatsache in diesem Sinne verwerten, daß das Verhältnis der blutdrucksteigernden Wirkung der einzelnen Analeptica nahezu, wenn auch nicht vollständig, dem Verhältnis der Krampfwirkung am dekapitierten Tier entspricht. Auch die Beeinflußbarkeit der blutdrucksteigernden Wirkung durch Narkotica spricht in diesem Sinne.

Es ergibt sich die Frage, ob die gefundenen Unterschiede für die Reaktion des Ganztieres von Bedeutung sind. Wir können diese Frage bejahen, wenn wir z. B. an die Feststellung von Kohn und Jakobi[7] denken, daß die Krämpfe nach Cardiazolgaben einen cerebralen, die Krämpfe nach Coramingaben einen mehr spinal-reflektorischen Charakter haben. Was nun die Blutdruckwirkung betrifft, so bietet zumindest die Wirkung des Neospirans am Ganztier derartige Besonderheiten, daß auf Grund der Ähnlichkeit mit der Blutdruckwirkung am dekapitierten Tier der Durchbruch einer spinalen Komponente an der Reaktion des Gesamttieres als Ursache des besonderen Verhaltens des Neospirans wahrscheinlich ist.

Fragt man nach der praktischen Bedeutung dieser Befunde, so könnte man z. B. folgern, daß die stärkere Ausdehnung der Wirkung einiger Analeptica auf alle Teile des Zentralnervensystems ein Vorzug gegenüber solchen sei, die bestimmte Abschnitte des Zentralnervensystems bevorzugen. Aber die Auffassung, wonach man noch innerhalb der einzelnen Abschnitte des Zentralnervensystems, also an den Einzelelementen des nervösen Substrats, differente Angriffspunkte anzunehmen hat, läßt eine andere Feststellung treffender erscheinen. Keines der untersuchten Analeptica stellt ein Optimum dar, sondern die Kombination mehrerer müßte einen gesteigerten Effekt geben, den keines für sich allein erreichen kann. Wir denken hierbei z. B. an den antagonistischen Effekt der Analeptica in der Narkose (Weckwirkung) und berufen uns auf die Untersuchungen Kolls[9], der zeigen konnte, daß die Grenze der Weckwirkung eines Analepticums durch die Zahl der Angriffspunkte gegeben ist.

Für die Gruppe der alkylierten Säureamide kommt als Nachteil noch die in der vorigen Mitteilung[1] näher untersuchte blutdrucksenkende Wirkung hinzu. Es erscheint die Forderung berechtigt, bei der Suche nach einem optimalen Analepticum innerhalb dieser Gruppe auch hierauf zu achten und einen Stoff zu suchen, der im Verhältnis zur analeptischen Wirksamkeit die geringste blutdrucksenkende Komponente hat. Daß eine solche Möglichkeit besteht, ergibt sich aus unserem Befund, wonach die blutdrucksenkende Wirkung des Neospirans im Verhältnis zur zentralerregenden Wirkung geringer ausgebildet ist als beim Coramin. So ergeben sich mancherlei Gesichtspunkte, die sowohl für die praktische Bewertung eines Analepticums wie auch für die Synthese neuer Stoffe Bedeutung haben können.

Zusammenfassung.

I. Die mitgeteilten Versuche dienen der Beantwortung der Frage, wie sich die Angriffspunkte einiger wichtiger Analeptica auf das Gehirn einerseits und auf das Rückenmark andererseits verteilen. Diese Frage wird an Hand der Krampf- und Blutdruckwirkung untersucht. Ausgehend von der Vermutung, daß sich das Coramin anders verhalte als das Cardiazol, wird das Wirkungsverhältnis beider Stoffe an dekapitierten Katzen bestimmt und das Ergebnis mit dem an intakten Katzen erhaltenen verglichen. Dabei ergab sich:

1. Das Verhältnis der Krampfwirkung beider Stoffe am dekapitierten Tier weicht von dem am Ganztier ermittelten ab, und zwar ist das Verhältnis am dekapitierten Tier zugunsten des Coramins verschoben.

2. Mit Coramin und mit Cardiazol lassen sich an dekapitierten Tieren Blutdrucksteigerungen erzielen, die mit den Krämpfen zusammenfallen, nach Verabreichung von Curare aber auch ohne Krämpfe auftreten. Das Verhältnis der Blutdruckwirkung beider Analeptica entspricht an dekapi-

tierten Katzen nahezu dem Verhältnis der Krampfwirkung beider Analeptica an dekapitierten Katzen und weicht erheblich von dem Verhältnis der Krampfwirkung am Ganztier ab. Am Ganztier dagegen scheint sich das Verhältnis der Blutdruckwirkung beider Analeptica mehr dem Verhältnis der Krampfwirkung am Ganztier zu nähern.

3. Es ergibt sich daraus, daß sich sowohl hinsichtlich der Krampfwirkung als auch hinsichtlich der Blutdruckwirkung von den höheren Zentren abwärts in der Ansprechbarkeit der nervösen Elemente für Coramin und Cardiazol eine Verschiebung zugunsten des Coramins bemerkbar macht.

4. Das Rückenmark ist nicht nur relativ zum Coramin, sondern auch absolut weniger empfindlich für Cardiazol als die höheren Zentren. Hierzu kommt noch eine leichtere Aufhebbarkeit der Cardiazolwirkung durch Narkose.

II. Der gleiche Unterschied wie zwischen Coramin und Cardiazol ließ sich auch zwischen Neospiran und Azoman feststellen. Es ließ sich das Neospiran dem Coramin und das Azoman dem Cardiazol an die Seite stellen. Es ergeben sich so zwei Gruppen von Analepticis, die entsprechend ihrer chemischen Verschiedenheit auch pharmakologisch voneinander abweichen.

III. Die Gesamtheit der Befunde wird so gedeutet, daß sich innerhalb des Zentralnervensystems die Angriffspunkte für beide Gruppen nicht völlig decken. Die differenten Angriffspunkte verteilen sich auf die beiden Hauptabschnitte des Zentralnervensystems nicht in dem gleichen Verhältnis, sondern so, daß in dem Verteilungsverhältnis auf Seiten der alkylierten Säureamide Coramin und Neospiran das Rückenmark stärker hervortritt.

IV. Es wird erörtert, inwieweit die stärkere Affinität der alkylierten Säureamide zum Rückenmark auch in dem Verhalten des Ganztieres zum Ausdruck kommt. Es wird zu diesem Zwecke auf Unterschiede im Charakter der Coramin- und Cardiazolkrämpfe sowie auf Besonderheiten der blutdrucksteigernden Wirkung des Neospirans hingewiesen.

V. Auf die Bedeutung dieser Befunde für die praktische Beurteilung der verschiedenen Analeptica wird hingewiesen.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Rex Pharmazeutischen Fabrik, Budapest.

Über die Blutdruck- und Darmwirkung alkoholischer Harnauszüge.

Von

Alexander Simon.

Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 28. Juli 1941.)

Simon und Gyulai[1] berichteten in diesem Archiv unlängst darüber, daß alkoholische Harnauszüge von Ratten den Blutdruck der dekapitierten Ratte, meistens nach kurzer senkender Wirkung, steigerten. Die steigernde Wirkung wurde nach Kokaingabe sensibilisiert. Auch am Blutdruck adrenalektomisierter und dekapitierter Ratten konnten diese Effekte beobachtet werden. Nach Ansicht der Autoren konnten diese Wirkungen weder durch die Annahme der Gegenwart von Histamin in diesen Auszügen, noch durch die bekannten kreislaufwirksamen Stoffe des Urins erklärt werden.

In dieser Abhandlung berichten wir über die pharmakologische Wirkung frischer, männlicher Harnauszüge, wo der Einwand, daß die beobachteten Erscheinungen durch die infolge der bakteriellen Zersetzung entstandenen Stoffe des Harns zu erklären seien, wegfällt. In den ersten Versuchen stellten wir die Extrakte in der schon beschriebenen Weise her[1]. Später wurde meistens wie folgt vorgegangen. Je 100 ccm frischer Männerharn wurden mit 0,5 ccm Eisessig versetzt und bei vermindertem Druck auf dem Wasserbade von 50° C eingeengt. Der Harnstoff wurde durch konz. Salpetersäure niedergeschlagen, das Filtrat durch NaOH-Lösung auf p_H ungefähr 4 gebracht und die Einengung bis zur Trockne fortgesetzt. Der Rückstand wurde mit 96%igem Äthylalkohol ausgezogen und filtriert. Der alkoholische Auszug wurde sodann bei vermindertem Druck eingeengt. Der rötliche, sirupöse Rückstand wurde in physiolog. NaCl-Lösung, und zwar in $^1/_{10}$ Volumen der Harnmenge aufgenommen, mit Tierkohle 10 Minuten lang geschüttelt und filtriert. Die schwachgelbe Flüssigkeit wurde dreimal mit Äther im Scheidetrichter geschüttelt und nachher der Äther von dem wässerigen Auszug verjagt. Die Auszüge wurden vor der biologischen Prüfung immer mit NaOH auf p_H 7 gebracht.

---

[1] Simon, A., u. E. Gyulai: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 370 (1941).

Blutdruckwirkung der Harnauszüge.

Wir haben beim Blutdruckversuch an der dekapitierten Ratte meistens 0.2 ccm von diesen Auszügen verabreicht. Diese Auszüge aus frischem Männerharn wirkten ähnlich den aus Rattenharn gewonnenen. Zuerst trat eine kurzdauernde (0,5—1,0 Minuten) Senkung ein, welche dann in eine Steigerung von längerer Dauer und größerem Ausmaße überging. Nach Verabreichung von 0,2 mg Cocain hydrochloric. rief die wiederholte Gabe des Harnauszuges eine stärkere Wirkung als früher hervor (Abb. 1).

An decerebrierten Katzen, bei denen auch der obere Teil des Rückenmarks zerstört wurde, beobachteten wir ähnliche Wirkungen. Nach der Decerebrierung war es ratsam, $1^1/_2$ Stunden zu warten. Oft sah man vor Verlauf dieser Zeit an diesem Präparat nur Senkung als Folge der Verabreichung der Auszüge. Die steigernde Wirkung entwickelte sich oft erst später. Die intravenöse Gabe der Harnauszüge war an Katzen meistens 1—2 ccm. Diese Gabe verursachte im allgemeinen eine Senkung von 2—20 mm Hg und nach Ablauf dieser Wirkung, welche meistens innerhalb 1 Minute geschah, eine Steigerung von 15—30 mm Hg. Letzterer Effekt klang meistens innerhalb 1—2 Minuten ab. Bei zwei Katzen wurden im Laufe der Auszugsverabreichung auch die einzelnen Pulse am schnelllaufenden Kymographen registriert. Während der Senkung war bei keinem der Tiere eine Pulszahländerung festzustellen, die Steigerung verlief aber bei einer der Katzen mit einer Pulszahlvermehrung von rund 20%. Bei der anderen verursachte die Injektion auch bei der immerhin geringen (14 mm Hg) Steigerung keine Änderung der Pulszahl.

Drei Katzen wurden nach der Decerebrierung auch beiderseitig adrenalektomisiert. Auch an diesen Tieren riefen die Harnauszüge unverändert die beschriebenen Wirkungen hervor, was soviel bedeutet, daß die Steigerung nicht als die Folge einer Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren aufzufassen ist.

An guten decerebrierten Präparaten rief — meistens wenn auch die verabreichte Cocaingabe (5 mg Cocainhydrochloric.) Steigerung verursachte — die wiederholte Gabe des Harnauszuges nach Abklingen der Cocainwirkung einen größeren und längerdauernden Blutdruckeffekt hervor (Abb. 5). Seltsamerweise konnten wir in fünf Versuchen weder an decerebrierten und gleichzeitig adrenalektomierten Katzen, noch an dekapitierten und gleichzeitig adrenalektomisierten Ratten diese sensibilisierende Wirkung nach Cocaingabe beobachten. Diese Erscheinung steht im Gegensatz zum Effekt des Rattenharnauszuges, bei welchem auch am adrenalektomisierten und dekapitierten Tier Sensibilisierung nach Cocain zu beobachten war. Die Auszüge aus Männerharn verursachten an mit Äther narkotisierten Katzen, wenn der Blutdruck hoch war, immer Blutdruckerniedrigung. 1—2 ccm Auszug riefen eine Senkung von 20 bis 40 mm Hg hervor, welche meistens innerhalb 1 Minute abgelaufen war.

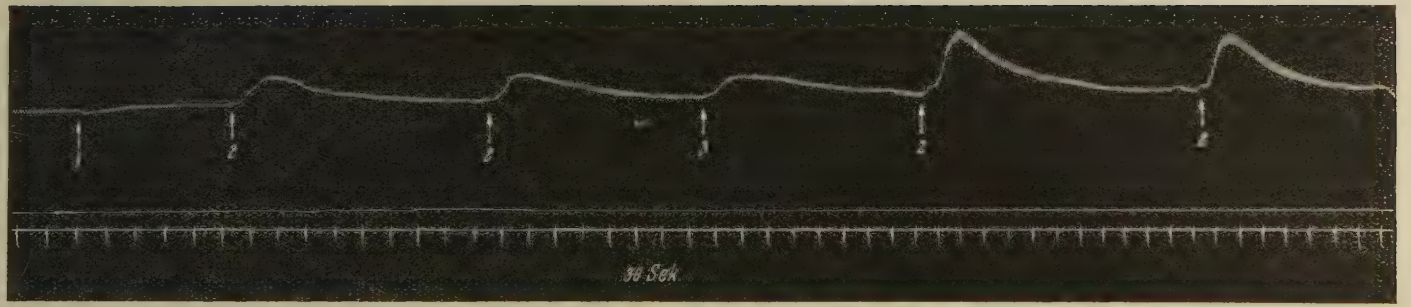


Abb. 1. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1 0,5 ccm physiol. NaCl-Lösung. Bei 2 0,2 ccm Harnauszug Bei 3 0,2 mg Cocainhydrochloric.

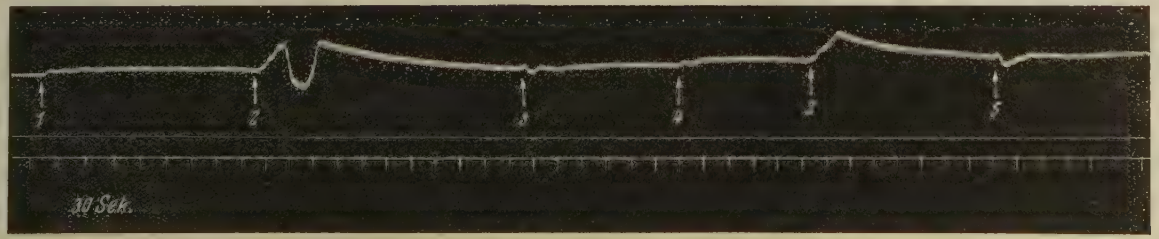


Abb. 2. Blutdruck der dekapitierten und adrenalektomisierten Ratte. Bei 1 0,5 ccm physiol. NaCl-Lösung. Bei 2 0,3 ccm Harnauszug. Bei 3 5 γ Histamindihydrochloric. Bei 4 1 γ Histamindihydrochloric. Bei 5 10 γ Histamindihydrochloric.

(Abb. 3 A.) Nach 2 mg pro kg Atropinsulfatgabe, welche die Entwicklung der senkenden Wirkung des dargereichten Acetylcholins völlig verhinderte, trat die blutdruckerniedrigende Wirkung des Harnauszuges noch immer zum Vorschein. Die Senkung war also nicht die Folge des eventuellen Acetylcholingehaltes der Auszüge.

Ist der blutdruckwirksame Stoff der Harnauszüge Histamin?

Da nach Ackermann und Fuchs [2] und nach E. Werle und G. Effkemann [3] das Histamin, wenn auch in geringen Mengen, im normalen Menschenharn vorkommt, müßten wir uns auch mit der Frage befassen, ob die von uns gefundenen Blutdruckerscheinungen von Histamin hervorgerufen worden sind oder nicht.

Nach unseren früheren Erfahrungen verursacht das Histamin am Blutdruck der dekapitierten Ratte und besonders wenn das Tier dazu

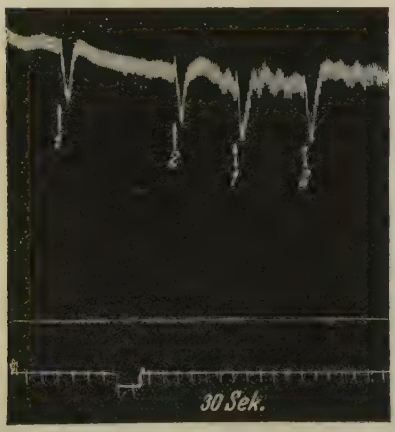


Abb. 3 A.

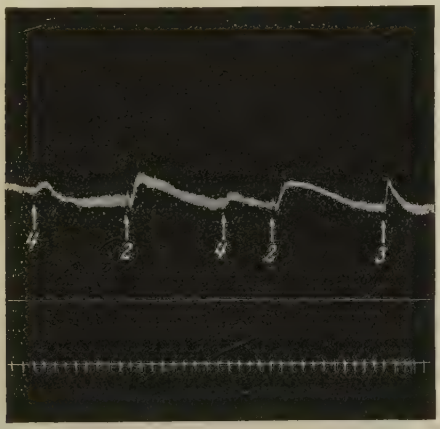


Abb. 3 B.

Abb. 3 A. Blutdruck der Katze in Äthernarkose. Bei 1 1 γ Histamindihydrochloric. Bei 2 1,0 ccm Harnauszug. Abb. 3 B. Blutdruck des Kaninchens in Äthernarkose. Bei 2 1,0 ccm Harnauszug. Bei 3 50 γ Histamindihydrochloric. Bei 4 10 γ Histamindihydrochloric.

noch adrenalektomisiert ist, keine Steigerung. Ungeachtet diesem Befunde haben wir mehrmals Histamin in verschiedenen Dosen und auch Harnauszug demselben Tiere, decerebrierter Katze oder dekapitierter Ratte, verabreicht und, wie auch Abb. 2 zeigt, gefunden, daß, wenn auch das Histamin am Blutdruck unwirksam war, der Harnauszug noch immer Blutdrucksteigerung hervorrief. Dieser Beobachtung zufolge verursacht also nicht das Histamin die Blutdruckwirkung der Harnauszüge.

Wir haben auch mehrmals Blutdruckversuche an mit Äther narkotisierten Kaninchen gemacht. Bekanntlich ruft das Histamin in tiefer

[2] Ackermann, D., u. H. G. Fuchs: Hoppe-Seylers Z. **259**, 32 (1939). — [3] Werle, E., u. G. Effkemann: Zbl. Gynäk. **1940**, S. 722.

Äthernarkose an diesen Tieren statt Senkung Steigerung hervor. Auch diese Versuche sprachen gegen die Annahme, daß der blutdruckwirksame Stoff dieser Harnauszüge das Histamin wäre. Z. B. war (Abb. 3) die blutdrucksenkende Wirkung von 1 ccm Harnauszug an der Katze ungefähr gleich der von 1 γ Histamin verursachten, und diese Menge Harnauszug rief am Blutdruck des Kaninchens eine kräftige, langdauernde Steigerung, der eine kurze Senkung vorangegangen war, hervor. 10 sogar 50 γ Histamin aber, also das 10- oder 50fache der Menge, welche in diesen Auszügen auf Grund des Blutdruckbefundes an der Katze angenommen werden konnte, waren nicht imstande, eine gleiche Blutdrucksteigerung an Kaninchen zu verursachen. Außerdem ging der steigernden Wirkung nie eine senkende, wie bei der von den Harnauszügen bewirkten, voran.

Es wurden auch Versuche mit Harnauszügen an isolierten Darmschlingen von Meerschweinchen in der Magnusschen Anordnung veranstaltet. Als Badeflüssigkeit benutzten wir Ringerlösung.

Das Volumen des Bades betrug 50 ccm. 0,5—1,0 ccm Harnauszug bewirkten nur ausnahmsweise eine Tonussteigerung; meistens veränderte sich der Tonus überhaupt nicht. Die Amplitude der rhythmischen Kontraktionen vergrößerte sich aber immer (Abb. 4), zuweilen wurde sie auch mehr frequent. Im Gegensatz zu diesen Befunden bewirkte das demselben Präparat verabreichte Histamin auch in den geringsten wirksamen Mengen schon Tonussteigerung. Eine Vergrößerung der rhythmischen Kontraktionen wurde durch Histamin nie beobachtet. Wenn man der Badeflüssigkeit, nach Gaddum[4], Atropin zugibt, verursacht das Histamin nur Tonussteigerung, die rhythmischen Kontraktionen fehlen. Durch Harnauszug konnte man auch an diesem Präparat rhythmische Bewegungen auslösen.

Ist der blutdruckwirksame Stoff der Harnauszüge Isoamylamin?

Da nach Bain[5] aus Menschenharn Isoamylamin hergestellt werden konnte, welche Substanz eine Blutdrucksteigerung verursacht, untersuchten wir mit unserer Methodik die Wirkung des Isoamylaminhydrochloric. (Kahlbaum). 1—2 mg dieser Substanz verurachten am Blutdruck der decerebrierten Katze eine steil sich entwickelnde Blutdrucksteigerung, der nie eine Senkung voranging. Es wurde in mehreren Versuchen der interessante Befund gemacht, daß nach Cocaingabe die steigernde Wirkung des Isoamylamins sich verminderte, oder gänzlich ausblieb (Abb. 5). Isoamylamin benimmt sich also ähnlich dem Ephedrin, aber unähnlich dem Adrenalin und unserem Harnauszug, deren Blutdruckwirkung durch Cocain verstärkt wird. Der Stoff von Bain ist außerdem in Äther löslich. Unsere Auszüge wurden aber stets nach Ausschütteln mit Äther getestet und für wirksam gefunden.

---

[4] Zitiert in Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **89**, 257 (1937). — [5] Bain, W.: Quart. J. exper. Physiol. **8**, 229 (1914). Zitiert in Gaddum, J. H.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe, 1936.

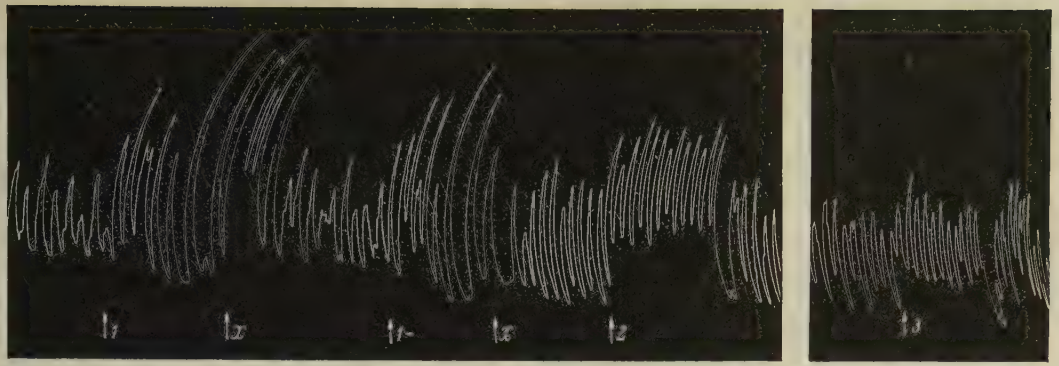


Abb. 4. Isoliertes Ileum des Meerschweinchens. Bei 1 1,0 ccm Harnauszug. Bei 2 1 γ Histamindihydrochloric. Bei 3 0,2 γ Histamindihydrochloric. Bei x Auswaschung.

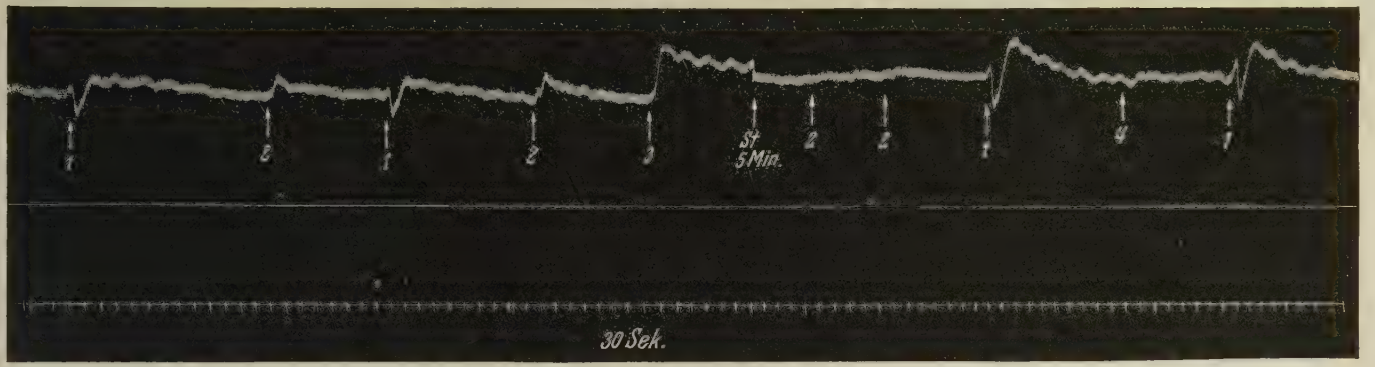


Abb. 5. Blutdruck der decerebrierten Katze. Bei 1 2 ccm Harnauszug. Bei 2 1,0 mg Isoamylaminhydrochloric. Bei 3 5 mg Cocainhydrochloric. Bei 4 2 mg Isoamylaminhydrochloric. Bei St 5′ war der Kymograph für 5 Minuten nicht in Bewegung.

Eigenschaften des blutdruckwirksamen Stoffes der Harnauszüge.

Es wurde gefunden, daß Dialyse in Schleicher-Schüllschen oder in Cellophanhülsen gegen strömendes Wasser schon nach Ablauf von 3—4 Stunden die Blutdruckwirkung der Harnauszüge beträchtlich vermindert, also der blutdruckwirksame Stoff dialysierbar ist.

Dieser Stoff ist thermostabil. Kochen in n NaOH für 10 Minuten vernichtet gänzlich die steigernde Blutdruckwirkung. Kochen in n HCl für dieselbe Zeit kann auch mit Verminderung der Blutdruckwirkung einhergehen.

In sechs Versuchen versetzten wir 10 ccm Harnauszug mit 2,5 ccm frischem Preßsaft des Pilzes Psalliota campestris. Nach Ablauf von 7 oder 24 Stunden bei Zimmertemperatur wurde die Blutdruckwirkung dieser Gemische mit jener von Kontrollgemischen — bestehend aus 10 ccm Harnauszug + 2,5 ccm gekochtem und filtriertem Preßsaft desselben Pilzes — verglichen. Nur in einem Falle konnte ein Unterschied, eine Verminderung der Blutdrucksteigerung bei dem ungekochten Pilzpreßsaftansatz, zwischen der Wirkung der Gemische beobachtet werden. In den anderen Fällen bewirkten die mit frischem und gekochtem Pilzpreßsaft versetzten Harnauszüge gleiche Steigerungen, wie die mit gekochtem Pilzpreßsaft versetzten. In zwei Versuchen versetzten wir Adrenalinlösungen mit diesen Preßsäften. In beiden Fällen verursachte der ungekochte Preßsaft eine beträchtliche Verminderung der Adrenalinblutdruckwirkung. Bekanntlich enthalten diese Pilzpreßsäfte Phenolasferment. Da diese Ansätze in der großen Mehrzahl der Fälle keine Änderung im Blutdruckbild bewirkten, ist der blutdruckwirksame Stoff dieser Harnauszüge wahrscheinlich kein Phenolabkömmling.

Besprechung der Ergebnisse.

Gemäß unseren Beobachtungen ist der blutdruckwirksame Stoff der alkoholischen Harnauszüge weder Histamin noch Acetylcholin noch Isoamylamin. Schon bei den Rattenharnauszugversuchen wurde erwähnt, daß er auch nicht Kallikrein, oder der nur am intakten Tier wirksame Stoff von Page sein kann.

Ungewiß ist, ob der von uns näher untersuchte Stoff nicht derselbe ist, welcher von Arnold [6] beschrieben worden ist. Er hat bei narkotisierten Katzen auch Blutdrucksenkung und bei Spinalkatzen Blutdrucksteigerung mit vorangehender Blutdrucksenkung gefunden. Immerhin war der blutdruckwirksame Stoff von Arnold nicht dialysabel. Eine nähere Analyse der Blutdruckwirkung wurde in der Abhandlung nicht gegeben.

Bohn und Hahn [7] beschrieben schon früher zweiphasische Blutdruckwirkungen infolge von Harnauszugdarreichungen. Die Auszüge wurden

[6] Arnold, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 360 (1938). — [7] Bohn u. Hahn: Z. klin. Med. **123**, 558 (1932).

mittels Adsorption an Tierkohle gewonnen. In unseren Versuchen brauchten wir die an Tierkohle nicht adsorbierte wässerige Lösung des Trockenrückstandes des alkoholischen Auszuges. Da aber der Gang der Extraktherstellung bei unseren Versuchen ein anderer war als jener, den Bohn und Hahn verfolgten, ist auch hier nicht ausgeschlossen, daß unser Stoff identisch mit dem von den genannten Autoren beschriebenen ist. Auch diese Autoren haben die von uns beschriebenen Versuche nicht veranstaltet, die eine weitere Erkennung der Wirkungsbedingungen des Wirkstoffes der Harnauszüge bezweckten.

Über die chemische Natur des Wirkstoffes dieser Auszüge wissen wir vorläufig nichts. Gemäß unserer Pilzversuche ist er wahrscheinlich kein Phenolabkömmling, und ist auch nicht identisch mit den schon beschriebenen kreislaufwirksamen Stoffen des Harnes. Er ist außerdem dialysabel.

Wir schlagen für den blutdruckwirksamen Stoff dieser alkoholischen Urinauszüge die kurze Benennung U-Stoff vor, welche Bezeichnung aber nicht behaupten soll, daß dieser Stoff unbedingt eine neue, bisher nicht bekannte Verbindung wäre.

Zusammenfassung.

1. Alkoholische Auszüge von Männerharn sind blutdruckwirksam. Die Wirkung besteht meistens in Senkung bei mit Äther narkotisierten Katzen und in Steigerung mit vorangehender Senkung bei Spinalkatzen und dekapitierten Ratten. Die steigernde Wirkung wird durch vorherige Cocaingabe vergrößert.

2. Der blutdruckwirksame Stoff ist weder Histamin noch Acetylcholin noch Isoamylamin. Er ist dialysabel. Durch Phenolase enthaltende Pilzpreßsäfte wird keine Verminderung der Blutdruckwirkung erhalten.

3. Dieser Harnauszug vergrößert die rhythmischen Kontraktionen des isolierten Meerschweinchendarmes.

4. Die Blutdruckwirkung des Isoamylamins wird nach Cocaingabe vermindert oder gänzlich vernichtet.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.

Untersuchungen über den Cholesterinstoffwechsel.

Von

Ed. Keeser.

(Eingegangen am 5. Oktober 1941.)

I.

Die Ansichten darüber, ob das Cholesterin bzw. eine Störung des Cholesterinstoffwechsels als auslösender Faktor in der Ätiologie der Atherosklerose eine entscheidende Rolle spielt, sind geteilt, jedoch ist sicher, daß in den Wänden atheromatöser Gefäße freies Cholesterin und seine Ester gegenüber der Norm beträchtlich vermehrt sind [1], und es liegt nahe, diese Zunahme mit einer vermehrten Ausfällbarkeit des Cholesterins in Zusammenhang zu bringen. Bei letzterer mögen veränderte Lösungsbedingungen eine Rolle spielen, die auf Änderungen der Vehikelfunktion der Eiweißkörper beruhen [2], jedoch ist hierüber Sicheres noch nicht bekannt. Dagegen liegen bereits andere Untersuchungsergebnisse vor, die geeignet erscheinen, die Entstehung einer Atherosklerose vom Cholesterintyp dem Verständnis näher zu bringen:

Der Befund von v. Eiselsberg [3], wonach bei Lämmern Entfernung der Schilddrüse zu Atheromatose (Einlagerung von Cholesterin in die Gefäßwand) führt, weist auf Beziehungen zwischen der Funktion der Schilddrüse und der Entstehung einer Gefäßsklerose hin. Hierfür spricht weiter, daß sich die Entstehung der durch Cholesterinverfütterung erzeugbaren Atheromatose durch gleichzeitige Verabfolgung von Thyroxin verhindern läßt [4], sowie daß eine wesentliche Erhöhung des Cholesterinspiegels im Blut bei gleichzeitiger Verabreichung von Cholesterin und Thyreoidin vermieden werden kann [5]. Auch durch Jodkalium kann die Entstehung einer Cholesterinsklerose beim Kaninchen verhindert werden [6]; in gleicher Richtung wirken Dijodyl [7] und Jodtropon [8] in kleinen Dosen, während durch große Joddosen — angeblich infolge Hemmung der Schilddrüsentätigkeit — der gegenteilige Effekt erzielt wird.

Diesen im Tierversuch erhaltenen Befunden entsprechend konnten beim Menschen an den Gefäßen von Basedowkranken bei weniger als der Hälfte von allen übrigen Fällen der gleichen Lebensalter atherosklerotische Veränderungen

---

[1] Vgl. Jores: Handb. d. spez. pathol. Anatomie u. Histologie **2**, 723 (1924); Aschoff: Beitr. Mediz. Klinik 1908, H. 1; Verh. dtsch. path. Ges. **10**, 166 (1907); Ribbert: Ebenda, 8. Tagung, 1904, S. 168; Wacker u. Hueck: Münch. med. Wschr. **60**, 2097 (1913); Hueck: Ebenda 1920, S. 535, 573, 606; Stumpf: Beitr. path. Anat. **59** (1914); Marchand: Verh. d. 21. Kongresses f. innere Medizin 1904, S. 23. — [2] Liebig, H.: Klin. Wschr. **1941**, S. 538. — [3] v. Eiselsberg: Arch. klin. Chir. **49**, 207 (1894/95). — [4] Murata u. Kataoka: Verh. jap. path. Ges. **8**, 221 (1918). — [5] Turner: J. exper. Med. (Am.) **58**, 115 (1933). — [6] Murata u. Kataoka: Verh. jap. path. Ges. **7**, 27 (1917). — [7] Liebig, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 265 (1931). — [8] Seel, H., u. Creuzberg, G.: Ebenda **161**, 674 (1931).

nachgewiesen werden[9]. Nach subtotaler Thyreoidektomie, Röntgenbestrahlung der Schilddrüse sowie bei genuinem und postoperativem Myxödem steigt der Cholesterinspiegel des Blutes an[10], während bei Hyperthyreose eine Hypocholesterinaemie besteht.

Bei der Deutung der geschilderten Wirkungsweise jodhaltiger Substanzen auf den Cholesterinstoffwechsel bzw. die Entstehung einer Atherosklerose lag es nahe anzunehmen, daß hierbei ihr Einfluß auf die Lipase eine Rolle spielt, wie es v. Baló[11] schon für den antisklerosierenden Effekt des Thyreoidins vermutet hat: Da Thyreoidin (Serum- und Leber-)Lipase hemmt, wird unter dem Einfluß dieses Hormons weniger Fett verseift; auf diese Weise werden weniger Fettsäuren in Freiheit gesetzt, und infolgedessen können weniger Cholesterinester gebildet werden, die schlechter löslich sind als freies Cholesterin und daher leichter ausfallen bzw. abgelagert werden. Für diese Deutung spricht, daß im Blut von thyreoidektomierten Enten eine Zunahme der Fettsäuren und des Cholesterins gefunden wird[12], während Hunde, die mit Thyroxin behandelt wurden, eine Abnahme des Gehalts an Fettsäuren und Cholesterin im Blut zeigen[13].

In Verfolg dieser Überlegungen erhob sich die weitere Frage, welche Stoffe außer Thyreoidin die Aktivität von Lipase zu hemmen vermögen und infolgedessen geeignet erscheinen, die Cholesterinsklerose prophylaktisch oder therapeutisch zu beeinflussen.

In den Versuchen, die zur Prüfung u. a. auch dieser Frage angestellt wurden[14], erwies sich Aceton als die einzige Substanz, die Lipase zu aktivieren vermag. Dieser Befund erscheint deswegen besonders bemerkenswert, weil nach Untersuchungen von Heubner Acetaldehyd, der ja im Organismus zu Aceton oxydiert wird, Arteriosklerose verursacht — in Übereinstimmung mit der Beobachtung, daß Arbeiter in Essigfabriken besonders häufig an Atherosklerose erkranken.

Von den Stoffen, die die Aktivität der Lipase in unseren Versuchen hemmend beeinflußten, seien genannt Capronaldehyd, Caprinaldehyd, Phenol, Hydrochinon, Thymol, Linolsäure, Ölsäure, benzylmalonsaures Äthyl, gallensaures Natrium, Elityran, Tonhormon, Testoviron, Progynon, Vigantol, Vogan, Lecithin, Triphenylguanidin, Dioxyphenylalanin, Physostigmin, Natriumfluorid, Kal. arsenicosum.

Schließlich sei erwähnt, daß Jod und Ricinstearolsäuredijodid (Dijodyl), in Aceton gelöst, die fördernde Wirkung des Acetons aufhoben und darüber hinaus hemmten.

---

[9] Goldschmidt: Dissertation Basel 1933. — [10] Hurxthal: Arch. int. Med. (Am.) **51**, 22; **52**, 86 (1933); **53**, 762 (1934); vgl. Schally: Z. klin. Med. **128**, 376 (1935). — [11] v. Baló: Beitr. path. Anat. **102**, 341 (1939). — [12] Benoit: C. r. Soc. Biol. Paris **125**, 887, 891 (1937). — [13] Parhon u. Ornstein: Bull. Soc. Chim. biol. (Fr.) **19**, 508 (1937). — [14] Keeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 310 (1935); Daube: Dissertation Hamburg 1937; Tegtmeyer: Ebenda 1941.

II.

Ohne auf die Form einzugehen, in der Cholesterin sich in Lösung befindet bzw. zur Lösung gebracht wird, wurde von Eck und Desbordes[15] die Fähigkeit des Blutes, Cholesterin in Lösung zu bringen, untersucht. Hierzu wurden die Autoren durch den Befund angeregt, daß die Cholesterinolyse des Blutes mit zunehmendem Alter abnimmt und bei alten Leuten negativ wird; bei letzteren sowie bei Atheromatose zeigte Cholesterin die Tendenz auszufallen. Schönholzer[16] konnte diese Beobachtungen bestätigen und fand weiter, daß das Blutserum von Arteriosklerotikern auf Zusatz von Cholesterin mit einer Ausfällung von Serumcholesterin reagiert. Ferner stellten Eck und Schönholzer fest, daß in der Artischocke (Cynara scolymus) ein Stoff enthalten ist, der das cholesterinolytische Vermögen des Blutes erheblich zu steigern vermag. In Erweiterung dieses Befundes prüften wir den Einfluß einiger Stoffe auf die Cholesterinolyse des Blutes. Hierbei gingen wir in folgender Weise vor:

Bei Hunden, die seit 24 Stunden nüchtern waren, wurde der Gehalt des Blutes an Cholesterin sowie das cholesterinolytische Vermögen nach dem von Tixier, Sèze und Eck[17] angegebenen Verfahren festgestellt. Anschließend erhielt je ein Hund 1 Woche lang täglich subcutan 1 ccm Solut. Suprarenin. hydrochloric. (1‰), 1 ccm Gynergen (Ergotamintartrat), 1 ccm Elityran, 2 mg Atropin. sulfuric., 0,1 g Azetylcholin, 5 ccm 10%iges Calciumgluconat oder 5 ccm Chophytol (ein Artischockenextrakt) bzw. per os 0,5 g JK. 1 Stunde nach der letzten Applikation eines dieser Stoffe wurde den Versuchstieren erneut Blut zur Untersuchung entnommen. Hierbei fanden wir folgendes (Tabelle 1):

Tabelle 1.

Untersuchte Substanz	Cholesterinspiegel im Serum in mg%		Cholesterinolyse in mg%	
	vor der Behandlung	nach der Behandlung	vor der Behandlung	nach der Behandlung
Chophytol	163	107	− 32	+ 22,5
Ergotamin	155	112	+ 35	+ 56
Adrenalin	71,8	103,5	0	0
	120	145	+ 45	+ 24
Calciumgluconat	99,4	128,3	+ 21,6	0
Atropin	102,6	125,8	+ 14,6	0
	170	205	+ 64	+ 12
Kaliumjodid	135	175,5	− 31	0
Elityran	112	106	0	0
Azetylcholin	150	165	52	45

Wie diese Versuche zeigen, bewirkten Stoffe wie Adrenalin und Calcium, die den Sympathicotonus steigern, eine Zunahme des Gehaltes an Gesamt-

[15] Eck u. Desbordes: C. r. Soc. Biol. Paris **117**, 428 (1934); **118**, 498 (1935). — [16] Schönholzer: Helvet. med. Acta 1939, S. 5. — [17] Siehe Schönholzer (l. c.).

cholesterin im Serum sowie eine Abnahme des cholesterinolytischen Vermögens. In der gleichen Richtung wirkte sich der den Parasympathicus lähmende Einfluß des Atropins aus; gleichsinnig, wenn auch schwächer, wirkte das parasympathisch erregende Azetylcholin. Umgekehrt hatte eine Lähmung des Sympathicus durch Ergotamin eine Abnahme des Gehalts an Gesamtcholesterin und eine Zunahme des cholesterinolytischen Vermögens zur Folge. Am stärksten wirkte in dieser Richtung der Artischockenauszug Chophytol, dessen Wirksamkeit auf das vegetative System im übrigen noch nicht erforscht ist. Das Schilddrüsenpräparat Elityran bewirkte zwar die bekannte Abnahme an Gesamtcholesterin, hatte jedoch unter unseren Versuchsbedingungen keinen Einfluß auf das cholesterinolytische Vermögen, während nach Zufuhr von JK ein solcher beobachtet wurde. Der letztgenannte Befund steht in Übereinstimmung mit klinischen Beobachtungen und dem Ergebnis der Versuche von Kubo [18], wonach JK, in nicht zu großen und nicht zu niedrigen Dosen verabfolgt, den sklerosierenden Effekt des Adrenalins abzuschwächen vermag. Indessen weist gerade die Wirkungsweise des JK darauf hin, daß die Dosierung bei den geschilderten Wirkungen eine wichtige Rolle spielen kann (vgl. auch Stump [19]).

Da bei der Atheromatose das Cholesterin hauptsächlich in Form von Estern abgelagert wird, erschien für die weitere Klärung der untersuchten Frage die Feststellung von Wichtigkeit, welchen Einfluß die geprüften Stoffe auf das Verhältnis von freiem zu gebundenem Cholesterin im Blut besitzen. Stump [19] fand, daß unter seinen Versuchsbedingungen Adrenalinzufuhr bei Kaninchen einen schnell wieder abklingenden Abfall der Cholesterinester bewirkte, nach 0,5 mg Atropin es zu einem Absinken des freien und Gesamtcholesterins unter Anstieg des Estercholesterins kam (nach 1 mg war die Wirkung umgekehrt), sowie daß Insulin (bei kleinen Dosen nach kurzem Ansteigen) eine lange anhaltende Senkung des Gesamtcholesterins und der Cholesterinester bewirkte, während das freie Cholesterin konstant blieb.

Bei den Enzymen des Cholesterin-Fettsäuregleichgewichts wird je nach den Versuchsbedingungen und dem benutzten Fermentsubstrat Esterbildung oder Esterspaltung beobachtet. Im Serum des Menschen und des Hundes sowie in Pankreastrockenpulver und Pankreasextrakten ist u. a. eine Cholesterinesterase enthalten, die — optimal bei $p_H = 8$ — bis zu 90% des im Serum vorhandenen Cholesterins verestert, während in Organen (Leber, Darmschleimhaut) eine Cholesterinesterase gefunden wurde, die — optimal bei $p_H = 5{,}3$ — die Cholesterinester des Serums vollständig spaltet [20]. Hundeserum enthält außerdem ein Cholesterinester spaltendes Enzym [21]. Dementsprechend wurden Untersuchungen am Serum von

[18] Kubo, K.: Fol. pharmacol. jap. **31**, H. 1 u. 4 (1941). — [19] Stump, W.: Z. exper. Med. **108**, 43 (1940). — [20] Schramm, G., u. A. Wolff: Z. physiol. Chem. **263**, 61 (1940). — [21] Sperry, W. M., u. V. A. Stoyenoff: J. biol. Chem. (Am.) **126**, 77 (1938).

Hunden vorgenommen, denen das Blut in nüchternem Zustand entnommen und unter sterilen Bedingungen untersucht wurde. Nachdem der Gehalt dieses Serums an Gesamtcholesterin und Cholesterinestern festgestellt worden war, wurde ihm die zu prüfende Substanz zugesetzt und das Serum 3 Tage lang bei 39° C im Brutschrank belassen. Anschließend wurde erneut der Gehalt des Serums an Gesamtcholesterin sowie an Cholesterinestern in den Ansätzen sowie in den Kontrollen bestimmt, in denen dem Serum nichts zugesetzt worden war. Das Cholesterin wurde kolorimetrisch nach der Liebermannschen Reaktion bestimmt. Hierbei wurde folgendes gefunden (Tabelle 2):

Tabelle 2.

Untersuchte Substanz	mg im Ansatz	Anfangswerte:		Endwerte:	
		Ges. Chol. mg%	Chol. Ester mg%	Ges. Chol. mg%	Chol. Ester mg%
Kontrolle	—	124,5	85,0	146,0	124,5
Atropin	0,4	122,0	85,0	141,5	97,5
Kontrolle	—	121,0	96,0	162,0	148,5
Natriumfluorid	6	120,0	96,0	163,0	148,5
Kontrolle	—	119,5	86,75	137,0	110,0
Chophytol	0,5 ccm	120,5	80,5	139,0	110,8
Kontrolle	—	124,0	91,0	148,0	127,5
Ephedrin	0,1 ccm	126,0	89,0	146,5	127,0
Kontrolle	—	159,5	129,0	169,5	146,0
Kaliumjodid	6	159,5	124,0	169,5	149,5
Kontrolle	—	—	123,5	—	160,5
Azetylcholin	5	—	128,0	—	184,0
Kontrolle	—	208,0	170,5	222,0	198,0
Thyreoidin	6	206,5	171,5	218,0	196,0
Ergotamin	6	208,5	169,5	228,0	212,5*

* Olivgrün verfärbt.

Die Versuche ergaben somit, daß

1. der Zusatz von Atropin eine stark hemmende Wirkung auf die Esterbildung zur Folge hatte, Kaliumjodid und Ergotamin sie schwach, Azetylcholin stärker förderten, während die übrigen untersuchten Stoffe unter den genannten Versuchsbedingungen wirkungslos waren. Vergleicht man weiter das Ergebnis dieser Versuche mit dem der Cholesterinolyse, so zeigt sich, daß

2. die Cholesterinolyse und die Bildung von Cholesterinestern von den geprüften Arzneimitteln nicht gleichsinnig beeinflußt werden. Schließlich zeigten die geschilderten Versuche, daß

3. die Lösungsbedingungen des Gesamtcholesterins durch die genannten Arzneimittel in vitro nicht verändert wurden, denn aus den Kontrollseren

ging bei der Endbestimmung ebensoviel Gesamtcholesterin in den Alkohol-Äther über wie aus den Seren, denen einer der erwähnten Stoffe zugesetzt worden war.

An sich liegt die Deutung nahe, daß durch Änderung des Kolloidzustandes des Serumeiweißes an Eiweißmoleküle angelagertes und so solvatisiertes Cholesterin vom Eiweiß abgehängt und hierdurch in seiner Lösungsstabilität beeinflußt wird[22]. Wir ergänzten daher unsere geschilderten Versuche dadurch, daß wir zunächst die Wirkung einiger der Stoffe, die sich in den vorgenannten Untersuchungen als wirksam erwiesen hatten, auf den Calciumgehalt des Blutes feststellten, da Calcium den Kolloidzustand des Eiweißes beeinflußt sowie biologisch von großer Bedeutung ist. Das Calcium wurde nach der Methode von Kramer-Tisdall bestimmt, indem zunächst der Nüchterngehalt des Blutes der Versuchshunde an Calcium festgestellt, darauf das zu prüfende Arzneimittel subcutan injiziert und 45 Minuten später erneut der Calciumgehalt des Blutes bestimmt wurde. Hierbei zeigte sich folgendes:

Calciumgehalt des Blutes:

1. nüchtern: 10,08 mg%; nach 100 mg Azetylcholin: 10,49 mg%,
2. nüchtern: 11,33 mg%; nach 1 mg Ergotamin: 12,38 mg%,
3. nüchtern: 11,52 mg%; nach 0,5 g Jodkalium: 11,04 mg%.

Diese Versuche ergaben somit, daß Azetylcholin und Ergotamin den Calciumgehalt des Blutes erhöhten, während Jodkalium ihn etwas erniedrigte. Da indessen Azetylcholin das Cholesterinolysevermögen des Blutes herabsetzte, während Ergotamin und Jodkalium es erhöhten, spielt der Calciumgehalt des Blutes offenbar bei der Cholesterinolyse keine Rolle. Es wurde daher weiter der Einfluß einiger der vorgenannten Arzneimittel auf den Gehalt des Blutes an Albumin und Globulin nach der Methode von Plötner[23] bestimmt, und zwar zunächst an nüchternen Hunden und anschließend 45 Minuten nach der subcutanen Injektion des zu prüfenden Stoffes. Hierbei ergab sich folgendes (Tabelle 3):

Tabelle 3.

Nüchternwert in mg%			Verabfolgtes Arzneimittel	Hiernach erhaltene Werte in mg%		
Ges. Eiweiß	Albumin	Globulin		Ges. Eiweiß	Albumin	Globulin
7,19	4,12	3,07	5 mg Atropin. sulfuric.	6,77	4,18	2,59
6,48	5,45	1,03	1 mg Ergotamin-tartrat	6,76	5,39	1,47
6,1	4,5	1,6	3 g JK	6,35	4,87	1,48
7,03	4,76	2,27	5 ccm Chophytol	7,23	4,76	2,47

[22] Vgl. hierzu Tayeau, F.: C. r. Acad. Sci. Paris **212**, 575 (1941); ferner Liebig, H., l. c. — [23] Plötner: Biochem. Z. **286**, 429 (1936).

Hiernach scheint es, daß Atropin, das das cholesterinolytische Vermögen des Blutes herabsetzt, den prozentualen Gehalt des Blutes an Gesamteiweiß erniedrigt, während Ergotamin, JK und Chophytol, die eine Zunahme der Cholesterinolyse bewirken, ihn erhöhen. Die Untersuchungen hierüber werden fortgesetzt. Darüber, ob bei der Zu- bzw. Abnahme der Eiweißkörper die Albumin- oder die Globulinfraktion spezifisch beeinflußt wird, geben die Versuche — wohl auch deswegen, weil die diesbezüglichen derzeit bekannten Bestimmungsmethoden zu wenig empfindlich sind — keine sichere Auskunft.

Zusammenfassung.

1. Es wurde über die Beziehungen der Schilddrüse und des Jods zur Entstehung einer Atherosklerose vom Cholesterintyp berichtet.

2. In eigenen Versuchen aktivierte Aceton Lipase, während alle anderen daraufhin geprüften Substanzen dieses Ferment, wenn sie es überhaupt beeinflußten, hemmten. Die fördernde Wirkung des Acetons wurde durch Jod und Ricinstearolsäuredijodid aufgehoben.

3. Das cholesterinolytische Vermögen des Blutes wurde durch den Artischockenauszug Chophytol, JK und Ergotamin erhöht, durch Adrenalin, Calcium, Atropin und Azetylcholin herabgesetzt; Elityran hatte keinen Einfluß.

4. Atropin hemmte die Bildung von Cholesterinestern stark; JK und Ergotamin förderten sie schwach, Azetylcholin stärker, während Chophytol, Ephedrin, Thyreoidin, Natriumfluorid und wohl auch Ergotamin wirkungslos waren. Eine verminderte oder vermehrte Bildung von Cholesterinestern ist somit für die Cholesterinolyse wohl ohne Bedeutung.

5. Der Calciumgehalt des Blutes spielt offenbar ebenfalls keine Rolle bei der Cholesterinolyse.

6. Atropin, das das cholesterinolytische Vermögen des Blutes herabsetzte, erniedrigte den prozentualen Gehalt des Blutes an Gesamteiweiß, während Substanzen, die eine Zunahme der Cholesterinolyse bewirkten, ihn erhöhten. Die Untersuchungen hierüber werden fortgesetzt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe.

III. Die Bedeutung der Vagusausschaltung für die Wirkung von Digitoxigenin auf das Elektrokardiogramm der Katze.

Von

Richard Walther.

(Eingegangen am 16. Oktober 1941.)

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Stoffe der Digitalisgruppe auf das Elektrokardiogramm der Katze (I. und II. Mitteilung [1]) ergaben, daß die beiden Genine Digitoxigenin und Gitoxigenin* bei der letalen Infusion nach Hatcher-Magnus Unterschiede in der Art ihrer Wirkung gegenüber entsprechenden Glykosiden aufweisen. Die für Stoffe der Digitalisgruppe charakteristische Wirkung auf die Sinusfrequenz und die Überleitungszeit war bei den Geninen wesentlich stärker ausgeprägt und die Kammerautomatie kam frühzeitiger zum Durchbruch, als bei dem zum Vergleich untersuchten Digitoxin und in geringerem Grade auch Desazetyloleandrin. Diese Beobachtungen ließen daran denken, daß die untersuchten Genine bei der letalen Infusion eine im Vergleich zu den Glykosiden größere Vaguswirkung haben könnten und daß hierdurch die stärkere Beeinflussung der Sinusfrequenz und der Überleitungszeit, vielleicht auch das frühzeitige Auftreten der Kammerautomatie, zu erklären seien.

Wir haben deshalb versucht, durch Infusion von Digitoxigenin am atropinisierten Tier zu klären, inwieweit die Vaguswirkung an dem gegenüber dem Digitoxin abweichenden Verhalten des Digitoxigenins beteiligt ist. Gleichzeitig sollte geprüft werden, ob die Dosis letalis des Digitoxigenins durch Atropinisierung geändert wird.

Der Einfluß der Vagusausschaltung durch Atropinisierung oder Vagotomie auf die elektrokardiographischen Veränderungen und auf die Höhe der tödlichen Dosis bei Infusion von Reinglykosiden und Gesamtpräparaten von Stoffen der Digitalisgruppe ist mehrfach beschrieben worden (vgl. zusammenfassende Darstellung bei Lendle [2] und Weese [3]). Entsprechende Untersuchungen über Genine der Digitalisgruppe in chemisch reiner Form liegen jedoch bisher nicht vor.

---

[1] Walther, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 709 (1940); **196**, 201 (1940). [2] Lendle: In Heffter Handb. exper. Pharmakol., Erg.-Bd. I (1935). — [3] Weese: Digitalis. Leipzig, Georg Thieme, 1936. — * Nach Versuchen, die zur Zeit noch nicht abgeschlossen sind, gilt das gleiche auch für K-Strophanthidin.

A. Experimenteller Teil.

I. Versuchsanordnung.

Bei Katzen wurden letale Infusionen von Digitoxigenin nach Hatcher-Magnus durchgeführt und dabei in kurzen Zeitabständen die elektrokardiographischen Veränderungen registriert. Die Methodik der Versuche im einzelnen entspricht den Angaben der I. Mitteilung. Auch die zu den Versuchen verwandte Substanz war die gleiche. Das Digitoxigenin wurde auch diesmal in der Konzentration 1 : 25000 in physiologischer Kochsalzlösung mit einem Zusatz von 4 % Alkohol infundiert.

Die Ausschaltung des Vagus wurde in unseren Versuchen durch Atropinisierung herbeigeführt. Die Tiere erhielten Dosen von 0,5 bis 1,3 mg/kg Atropin. sulfur. in physiologischer Kochsalzlösung, wie im einzelnen aus der Tabelle auf S. 546, in der die wichtigsten Ergebnisse aus 12 Versuchen zusammengestellt sind, hervorgeht. In den Versuchen I—IV wurde die Atropinlösung 20—30 Minuten vor Beginn der Infusion subcutan injiziert. In einem Teil der Versuche (Nr. V—VIII) setzten wir außer dieser subcutan gegebenen Dosis der Infusionslösung noch Atropinsulfur. in der Konzentration 1 : 25000 zu. In einer 3. Versuchsgruppe (Nr. IX—XII) erhielten die Tiere nach Einleitung der Narkose die Dosis von 0,5 mg pro kg Atropin als intravenöse Injektion und nach Einbinden der Kanüle die gleiche Dosis noch einmal subcutan.

Bei diesen von uns verwandten Dosierungen von Atropin kann nach den bisher vorliegenden Erfahrungen mit einer völligen Ausschaltung des Herzvagus gerechnet werden. In der Literatur wird für ähnliche Versuche meist eine Dosis von etwa 0,5 mg/kg Atropin angegeben. Lendle [4] fand bei Kontrollversuchen mit elektrischer Vagusreizung, daß eine Dosis von 0,5 mg/kg ausreicht, um den Vaguseinfluß völlig auszuschalten. In unseren Versuchen gingen wir meist noch über diese Dosis hinaus, um mit Sicherheit eine Ausschaltung des Herzvagus annehmen zu können.

In mehreren Kontrollversuchen zeigte sich, daß die Injektion von 1 mg/kg Atropin allein die Tiere nicht ernstlich schädigt und keine Formveränderungen des Elektrokardiogramms verursacht.

II. Tierversuche.

Bei der Beobachtung der Tiere während des Versuchs waren die Anzeichen der Atropinwirkung deutlich zu erkennen: Das sonst bei der Einleitung der Äthernarkose regelmäßig auftretende Speicheln erfolgte nicht. Die Herzfrequenz war erhöht. Die am nicht atropinisierten Tier gegen Ende der Infusion von Digitoxigenin meist auftretenden Krämpfe

[4] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 585 (1932).

waren unter der Atropinwirkung weniger heftig. Auch trat keine Verengerung der infolge der Atropinisierung maximal erweiterten Pupillen auf. Die Atmung war in einigen Versuchen während der zweiten Hälfte der Infusion flach und unregelmäßig.

a) Dosis letalis.

Der Durchschnittswert der Infusionsgeschwindigkeit aus allen Versuchen beträgt 0,748 mg/kg/Stunde. Hierbei fanden wir als Mittelwert aus unseren 12 Versuchen eine Dosis letalis von 0,355 mg/kg. Hingegen hatten wir bei Infusion von Digitoxigenin ohne Atropin unter den gleichen Versuchsbedingungen eine Dosis letalis von 0,443 mg/kg gefunden (I. Mitteilung). Die Toxizität des Digitoxigenins wird also nach diesen Versuchen durch die Atropinisierung anscheinend etwas erhöht. Allerdings sind auch die Ergebnisse derjenigen Versuche einbegriffen, bei denen gegen Ende der Infusion die Atmung flach und unregelmäßig wurde, so daß mitunter der Eindruck entstand, der Tod des Tieres träte durch primären Atemstillstand, nicht Herzstillstand ein. Die Streuung innerhalb der Versuchsreihe war beträchtlich. Der niederste gefundene Wert für die Dosis letalis beträgt 0,208 mg/kg (Versuch Nr. III), der höchste in der Tabelle enthaltene 0,568 mg/kg (Versuch Nr. II). Zwei Tiere (in die Tabelle nicht aufgenommen) erwiesen sich als besonders wenig empfindlich gegen Digitoxigenin. Bei der Infusionsgeschwindigkeit von 0,594 bzw. 0,861 mg/kg/Stunde wurde bei einer Dosis von 0,672 bzw. 0,517 mg/kg der Versuch aus technischen Gründen abgebrochen; bei einem Tier trat wieder völlige Erholung ein. Bei einem Vergleich mit der Tabelle 1 der I. Mitteilung ist zu erkennen, daß die Streuung der Werte durch die Atropinisierung nicht geringer wird. Eher erscheint sie größer.

b) Veränderungen im Elektrokardiogramm.

Die Veränderungen im Elektrokardiogramm der atropinisierten Katze unterschieden sich in mehrfacher Hinsicht von den Befunden, wie sie bei Infusion von Digitoxigenin ohne Atropin beschrieben sind. Von Digitoxin und Strophanthin ist bekannt, daß die Sinusbradykardie durch Ausschaltung des Vagus fast völlig aufzuheben ist. Unsere Versuche mit Digitoxigenin am atropinisierten Tier zeigen, daß auch die bei Infusion der Genine zu beobachtende hochgradige Sinusbradykardie nach Vagusausschaltung nicht eintritt. Allerdings kam es in einem Teil der Versuche während des Verlaufs der Infusion zu einer geringen Verlangsamung des Sinusrhythmus, die bei 25—45% der Dosis letalis ihren Höhepunkt erreichte. Sie tritt, wie aus Tabelle S. 546 hervorgeht, weit zurück gegenüber den Werten, die bei Infusion von Digitoxigenin ohne Atropin zu beobachten sind. Sie ist nicht als vagusbedingt anzusehen.

Veränderungen im Elektrokardiogramm der Katze bei Infusion von Digitoxigenin nach Atropinisierung.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Tiergewicht in kg	Atropin Dosis in mg/kg	Digitoxigenin Dosis letalis in mg/kg	Dauer der Infusion in Minuten	Infusionsgeschwindigkeit in mg/kg/Std.	Stärkste Verlangsamung der Sinusfrequenz um % der Ausgangsfrequenz	Dissoziation	
								bei % Dos. let.	bei mg/kg infundierter Substanz
I	91	2,6	0,5 s. c.	0,309	20,7	0,894	17	37	0,114
II	89	2,6	0,5 s. c.	0,568	56,4	0,603	—	33	0,185
III	92	2,4	0,75 s. c.	0,208	19,3	0,649	9	66	0,136
IV	87	2,1	1,24 s. c.	0,244	20,6	0,711	36	47	0,114
V	78	2,6	1,0 s. c. 0,35 i. v.	0,354	22,9	0,932	5	26	0,092
VI	88	3,5	0,5 s. c. 0,33 i. v.	0,329	28,0	0,705	12	63	0,206
VII	76	1,9	0,5 s. c. 0,44 i. v.	0,444	21,9	1,221	31	57	0,252
VIII	75	2,6	0,5 s. c. 0,52 i. v.	0,523	38,8	0,811	28	27	0,146
IX	105	3,0	0,5 i. v. 0,5 s. c.	0,331	36,0	0,550	15	18	0,060
X	106	2,2	0,5 i. v. 0,5 s. c.	0,320	30,0	0,640	20	44	0,141
XI	107	3,0	0,5 i. v. 0,5 s. c.	0,371	39,3	0,567	30	43	0,161
XII	108	2,6	0,5 i. v. 0,5 s. c.	0,260	22,8	0,692	14	43	0,119
Mittel:		2,6		0,355		0,748	21	42	0,144

Auch war in unseren Versuchen keine Verlangsamung der Frequenz des Kammereigenrhythmus zu erkennen, wie sie bei Infusion von Digitoxigenin ohne Atropinisierung häufig in einer kürzeren dem Eintritt der Dissoziation folgenden Zeitspanne zu beobachten war. Bekanntlich ist ja die Frequenz der in der Gegend des AV-Knotens gebildeten Reize, wie sie bei der Genininfusion unmittelbar nach der Dissoziation vorherrschen, dem Einfluß des Vagus und Accelerans unterworfen.

Die Überleitungszeit wurde durch Digitoxigenin unter Atropin nicht wesentlich beeinflußt. In den meisten Versuchen kam keine oder nur eine ganz geringfügige Verlängerung der Überleitungszeit zustande. Nur in zwei Fällen (Versuch Nr. II und VI) war das PQ-Intervall kurz vor der AV-Dissoziation bis auf 0,1 bzw. 0,12 Sekunden verlängert.

Unter verschiedenen Dosierungsbedingungen des Atropins wurde geprüft, ob nach Ausschaltung der Vaguswirkung der Eintritt der Dissoziation später zustande käme. In der Tabelle S. 546 sind für den Beginn der Kammerautomatie der jeweilige Prozentsatz der tödlichen Dosis und die bis zu diesem Zeitpunkt infundierte Menge Digitoxigenin in mg/kg Körpergewicht angegeben. Die Streuung der Einzelwerte war groß. Die Dissoziation erfolgte bei einem aus allen Versuchen ermittelten Durchschnittswert von 42% der Dosis letalis und 0,144 mg/kg infundierter Substanz. Bei der Infusion von Digitoxigenin ohne Atropin konnten wir früher an unserem verhältnismäßig großen Material für den Beginn der Kammerautomatie als Durchschnitt 23% der Dosis letalis oder 0,105 mg/kg berechnen. Der Eintritt der AV-Dissoziation wird also durch die Atropinisierung verzögert; jedoch erfolgt er immer noch frühzeitiger als bei Digitoxin, bezogen auf den Prozentsatz der tödlichen Dosis.

Das Elektrokardiogramm zeigte infolge des Fehlens der Bradykardie beim Durchbruch der Kammerautomatie ein anderes Bild als bei der Infusion von Digitoxigenin ohne Atropin. Zunächst hatten Vorhof und Kammer nach Eintritt der AV-Dissoziation noch die gleiche Frequenz, so daß der Abstand zwischen Vorhofzacke und Kammerkomplex über kürzere Strecken des Elektrokardiogramms gleich sein konnte. Nach einiger Zeit kam es dann zu einem geringen Unterschied zwischen der Frequenz von Vorhof und Kammer. Interferenz zwischen Sinusrhythmus und Kammerautomatie oder Interferenzdissoziation kam jedoch in keinem Versuch zur Ausbildung. Der Kammerkomplex wies gleich bei Beginn der AV-Dissoziation eine Veränderung seiner Gestalt auf und glich etwa den Formen, die bei Digitoxigenin ohne Atropin nach Infusion von durchschnittlich 45% der Dosis letalis regelmäßig auftreten. Das Stadium der Reizentstehung in den oberen Reizbildungszentren mit normalem Kammerkomplex war nicht zu beobachten. Die übrigen für Digitoxigenin typischen Einwirkungen auf das Elektrokardiogramm, insbesondere die Veränderungen der Nachschwankung, wurden durch die Atropinisierung nicht beeinflußt.

B. Besprechung der Ergebnisse.

Der Einfluß der Vagusausschaltung durch Vagotomie oder Atropinisierung auf die Wirkung intravenöser Infusionen von Glykosiden oder Gesamtpräparaten aus der Digitalisgruppe ist wiederholt Gegenstand genauer Untersuchungen gewesen. Eine Beurteilung der einschlägigen Literatur, auf die hier nur verwiesen werden soll, ist zuletzt von Lendle [2] und Weese [3] gegeben worden. Die Angaben über die Bedeutung der Atropinisierung für die Höhe der Dosis letalis sind nicht übereinstimmend. Ein Teil der Autoren berichtet von einer Verminderung, andere fanden eine Erhöhung der Toxizität bei der letalen Infusion an der Katze. Erheblich sind die beobachteten Änderungen der tödlichen Dosis nicht. Lendle hält deshalb die Bedeutung der Ausschaltung des Vagus für den quantitativen Ausschlag einer Titration nicht für sehr groß. Auch die Streuung der Einzelwerte von Glykosiden der Digitalisgruppe konnte bisher durch Ausschaltung des Vagus nicht eindeutig vermindert werden.

Vergleichen wir nun mit diesen Beobachtungen an Glykosiden das Ergebnis unserer Versuche mit Digitoxigenin, so finden wir ein im wesentlichen damit übereinstimmendes Verhalten: Die am atropinisierten Tier gefundene Dosis letalis von 0,355 mg/kg weicht nicht erheblich ab von der Dosis letalis in Höhe von 0,443 mg/kg, die wir früher unter sonst gleichen Versuchsbedingungen bei der Infusion von Digitoxigenin ohne Atropin ermittelten. Der Unterschied zwischen diesen beiden Werten liegt bei Berücksichtigung der großen Streuungsbreite, die, wie oben dargelegt, bei Atropinisierung eher größer als kleiner ist, nahe bei der üblichen Schwankungsbreite solcher Versuche. Immerhin scheint, soweit ein Urteil aus 12 Versuchen möglich ist, die Dosis letalis durch Atropinisierung etwas erniedrigt zu werden.

Betreffs der elektrokardiographischen Veränderungen ist in mehrfacher Hinsicht ein Unterschied zwischen der Wirkung der Infusion von Digitoxigenin mit und ohne Ausschaltung des Vagus festzustellen. Die hochgradige Sinusbradykardie und die Verlängerung der Überleitungszeit, die ja bei letaler Infusion von Digitoxigenin stärker ausgeprägt sind als bei den Glykosiden, treten unter Atropinwirkung weitgehend zurück. Wie auf S. 545 näher ausgeführt, war aber trotz ausreichender Atropinisierung eine, wenn auch nur geringe Verlangsamung des Sinusrhythmus zu erkennen. Ebenfalls war in zwei Versuchen eine Verlängerung der Überleitungszeit zu beobachten. Es handelt sich hierbei also um vom Vagus unabhängige Wirkungen des Digitoxigenins.

Auch für Glykoside gilt nach Angaben der Literatur das gleiche. Bei Infusion nach Ausschaltung des Vagus fehlt die Sinusbradykardie großenteils, jedoch nicht vollständig. Bekanntlich ist ja auch am isolierten Herzen eine Wirkung der Digitalisstoffe auf die Reizbildungszentren und die Reizleitung direkt nachweisbar.

Es ist danach anzunehmen, daß die Wirkung der Genine auf Frequenz und Überleitungszeit ebenso wie bei den Glykosiden zum größeren Teil auf einer Vaguswirkung, zu einem kleineren Teil auf direktem Angriff am Herzen beruht. Ob diese vom Vagus unabhängigen Anteile der Geninwirkung stärker sind als bei den Glykosiden, kann mangels ausreichender Zahlenangaben in der Literatur zur Zeit nicht entschieden werden. Zwar haben Robinson und Wilson[5] genaue elektrokardiographische Untersuchungen nach Vagusdurchtrennung durchgeführt. Da aber in diesen Versuchen eine Digitalistinktur infundiert wurde, die ja bekanntlich neben den Glykosiden auch Genine in wechselnder Menge enthalten kann, ist ein Vergleich mit unseren Ergebnissen nicht ohne weiteres möglich. An sich stimmen die zahlenmäßigen Angaben über die Sinusbradykardie, wie sie in der Mitteilung von Robinson und Wilson gegeben werden, mit den von uns gefundenen Werten annähernd überein. Auch fanden diese Autoren trotz Vagusdurchtrennung in einigen Fällen eine Verlängerung der Überleitungszeit. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen u. a. auch Hoekstra und Schleusing[6] bei der Infusion von Strophanthin nach Vagusdurchtrennung.

Der Eintritt der Kammerautomatie wird, wie oben im einzelnen ausgeführt, durch die Atropinisierung verzögert. Diese Versuche zeigen, daß die gegenüber Digitoxin stärkere Vaguswirkung des Digitoxigenins, offenbar hauptsächlich auf dem Wege der starken Sinusbradykardie, am frühzeitigen Auftreten der Dissoziation mitbeteiligt ist. Die Dissoziation tritt aber bei Infusion von Digitoxigenin unter Atropin immer noch bei einem geringeren Prozentsatz der tödlichen Dosis ein als bei Digitoxin. Deshalb kann darüber hinaus noch aus den Versuchen geschlossen werden, daß das Digitoxigenin auch auf die Automatie der niederen Reizbildungszentren direkt eine stärker fördernde Wirkung besitzt als das Digitoxin.

Aus den hier vorgelegten Versuchen ist somit zu ersehen, daß ein großer Teil der Unterschiede, die zwischen der Wirkung intravenöser Infusionen von Digitoxin und Digitoxigenin auf das Elektrokardiogramm bestehen, auf eine stärkere Vaguswirkung des Genins zu beziehen ist. Jedoch war eine Verminderung der Toxizität des Digitoxigenins durch Ausschaltung dieser vom Vagus abhängigen Veränderungen der Herztätigkeit nicht zu erzielen. Danach scheinen diese also nicht zu den Faktoren zu gehören, die für das Zustandekommen der Giftwirkung des Digitoxigenins ausschlaggebend sind.

Zusammenfassung.

Die Genine der Digitalisgruppe Digitoxigenin und Gitoxigenin unterscheiden sich, wie früher beschrieben, bei letaler Infusion in ihrer Wirkung auf das Elektrokardiogramm der Katze in mehrfacher Hinsicht von Digi-

[5] Robinson u. Wilson: J. Pharmacol. (Am.) **10**, 491 (1918). — [6] Hoekstra u. Schleusing: Z. exper. Med. **90**, 36 (1933).

toxin und anderen Glykosiden. Die hier mitgeteilten Versuche mit Digitoxigenin an der atropinisierten Katze sollen zur Klärung dieses Unterschiedes vor allem hinsichtlich des Anteils der Vaguswirkung beitragen.

Die Wirkung des Digitoxigenins auf die Frequenz des Sinusrhythmus bleibt unter Atropin zum größten Teil aus. Eine Verlängerung der Überleitungszeit kommt nur in einzelnen Fällen zustande. Es handelt sich hierbei also vorwiegend um eine Vaguswirkung des Digitoxigenins. Sie ist nach unseren Feststellungen stärker als die des Digitoxins.

Nur zu einem viel geringeren Teil ist die Beeinflussung der Sinusfrequenz und Überleitungszeit auf vom Vagus unabhängige Wirkungen des Digitoxigenins zu beziehen, wie sie auch für Glykoside bekannt sind.

Der Eintritt der AV-Dissoziation während der Infusion von Digitoxigenin wird durch die Ausschaltung des Vagus verzögert. Die Kammerautomatie tritt jedoch auch unter Atropinwirkung noch früher auf als bei Digitoxin. Die stärkere Vaguswirkung des Genins erklärt also ebenfalls das frühzeitige Erscheinen der Dissoziation nur zum Teil. Wie es scheint, fördert Digitoxigenin auch die Automatie der sekundären Reizbildungszentren stärker als Digitoxin.

Die Toxizität des Digitoxigenins ist bei Ausschaltung des Vagus nicht erheblich verändert, keinesfalls aber herabgesetzt. Die Vaguswirkung des Digitoxigenins gehört also nicht zu den für die Toxizität wesentlichen Faktoren.

Aus der Med. Univ. Poliklinik und der Med. Klinik Köln Bürgerhospital.
(Dir.: Prof. G. Wüllenweber.)

Verhalten der aus erythrocytären Parasitenformen hervorgegangenen E-Stadien des Plasmodium gallinaceum*.

Von

H. Zain.

Mit 2 Textabbildungen (3 Einzelbildern).

Eingegangen am 9. Oktober 1941.

Die Auffindung der E-Stadien hat die Chemotherapie der Malaria vor neue Aufgaben gestellt. Ein Mittel, das die E-Stadien vernichtet, wird als Prophylaktikum und gleichzeitig wohl auch als rezidivverhinderndes Mittel anzusehen sein. Es ist zu hoffen, daß die Vogelmalaria sich auch hier wieder als ein geeignetes Testobjekt erweisen wird. Klarheit über Ursprung, Schicksal und Stellung der E-Stadien im Verlauf der Vogelmalaria, Vergleiche mit der menschlichen Malaria werden ein erfolgreiches Arbeiten auf chemotherapeutischem Gebiet erleichtern.

Wie in einer früheren Arbeit[1] gezeigt, sind bei der Plasmodium gallinaceum Infektion des Huhnes zeitlich Zusammenhänge zwischen der Blutinfektion und dem Auftreten der E-Stadien im Gehirn erkennbar, wenn der Plasmodienstamm nur durch Blutüberimpfung fortgeführt wurde und die Weiterimpfung stets zu Beginn der Blutinfektion erfolgte. Voraussetzung für die Beweisführung, daß aus erythrocytären Parasitenformen E-Stadien hervorgehen können, war, daß das zur Weiterimpfung benutzte parasitenhaltige Blut frei von E-Stadien sowie frei von aus E-Stadien hervorgegangenen Merocoiten war. Die Beobachtung, daß Plasma parasitenreichen Blutes die Malaria zu übertragen und E-Stadien zu bilden imstande ist, die Untersuchung der im Plasma vorhandenen Malariaüberträger, die erlaubte, das Vorhandensein von E-Stadien bzw. von Merocoiten aus E-Stadien im Plasma auszuschließen, war ausschlaggebend für die Schlußfolgerung, daß Blutparasiten sich in E-Stadien umwandeln können. Nach Phagocytose durch Zellen des Wirtes (z. B. Zellen des Reticuloendothels, Monocyten) dürften nur die erythrocytären Parasitenstadien dieser Umwandlung fähig sein, die ihre Entwicklung im Erythrocyten abgeschlossen haben, also nicht mehr auf das Milieu der Erythrocyten

* Nachtrag zu Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 210, 1941.

[1] Zain: Klin. Wschr. **20**, 176 (1941); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 210 (1941).

angewiesen sind. In Ergänzung früherer Versuche bleibt nachzutragen, ob aus Blutparasiten hervorgegangene E-Stadien dasselbe Verhalten zeigen wie ursprünglich aus Sporocoiten hervorgegangene E-Stadien.

E-Stadieninfektion des Huhnes.

Wird Plasmodium gallinaceum durch Mückenstich übertragen so wandeln sich die Sporocoiten, wie von Kikuth und Mudrow[2] gezeigt ist, in E-Stadien um. Aus diesen E-Stadien geht einerseits ein exoerythrocytärer Zyklus hervor, der zu der frühzeitig vorwiegend im Gehirn des Huhnes in Erscheinung tretenden exoerythrocytären Infektion (EE-Frühinfektion) führt, andererseits nimmt aus den E-Stadien der erythrocytäre Zyklus die eigentliche Blutmalaria ihren Ursprung[3]. Zeitlich entwickeln sich beide Zyklen so, daß fast regelmäßig zu Beginn der akuten Phase der Blutmalaria, meist in den ersten 8 Tagen nach Erscheinen der Blutparasiten, E-Stadien im Gehirn aufzufinden sind.

Wird E-stadienfreies, parasitenhaltiges Blut i. m. überimpft, so treten im Gehirn E-Stadien erst nach der akuten Blutmalaria frühestens 3 Wochen nach der Impfung oder etwa 14 Tage nach Erscheinen der Blutparasiten auf. Der Ursprung dieser E-Stadien geht auf erythrocytäre Parasitenformen zurück (s. vorige Mitteilung).

Wird nach Sporocoiteninfektion während der akuten Phase der Blutmalaria Blut zur Weiterimpfung entnommen, so ist es möglich, daß im Blute vorhandene E-Stadien mit der Impfung auf den neuen Wirt übertragen werden. Aus diesen, ursprünglich von Sporocoiten sich ableitenden E-Stadien, kann dann ein neuer E-Stadienzyklus hervorgehen, der wieder Ursache einer EE-Frühinfektion sein kann. Im folgenden ist untersucht, ob im späteren Verlauf der Erkrankung aus Blutparasiten hervorgegangene E-Stadien ebenfalls imstande sind, nach Überimpfung im neuen Wirt eine EE-Frühinfektion zu verursachen.

Versuche.

Zu den Versuchen wurden etwa 1 Jahr alte weiße Leghorn- und rebhuhnfarbige Hähne benutzt. Der Plasmodium gallinaceum-Stamm[4] wurde ausschließlich durch Blutüberimpfung fortgeführt. Die Überimpfung parasitenhaltigen Blutes, das aus der Flügelvene entnommen wurde, erfolgte intramuskulär meist an zwei Stellen der Brustmuskulatur. Zur Vermeidung der Gerinnung wurden 4 Teilen Blut 1 Teil isotoner

[2] Kikuth u. Mudrow: Riv. Malariol **19**, 1 (1940); Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **44**, 257 (1940). — [3] Nach Missiroli [Riv. Malariol. **4**, 69 (1940)] zerfällt der Sporocoit extracellulär in den Lymphräumen des Wirtes in vier Merocoiten. Diese Entwicklung spielt sich je nach der Reife des Sporocoiten innerhalb der ersten 12—30 Stunden ab. Die so entstandenen Merocoiten sollen entweder in Endothelzellen oder in rote Blutkörperchen eindringen können. — [4] Herrn Prof. Dr. Kikuth, Elberfeld, danke ich bestens für die Überlassung des Plasmodienstammes.

Natriumcitratlösung zugesetzt. Die Blutinfektion wurde bei allen Tieren jeden 2. Tag verfolgt[5]. Da die E-Stadien des Plasmodium gallinaceum am sichersten und regelmäßigsten im Gehirn aufzufinden sind, wurden sie auch hier in Gehirnabstrichen, die nach Giemsa gefärbt wurden, gesucht (s. vorige Mitteilung).

In Abb. 1 ist eine Versuchsserie wiedergegeben. Vermerkt ist, wieviel Tage nach der Infektion (p. i.) bis zur Tötung des Tieres verflossen sind. Die jeweils überimpfte Blutmenge, die dem Spendertier kurz vor der Tötung entnommen wurde, ist verzeichnet und der E-Stadienbefund markiert.

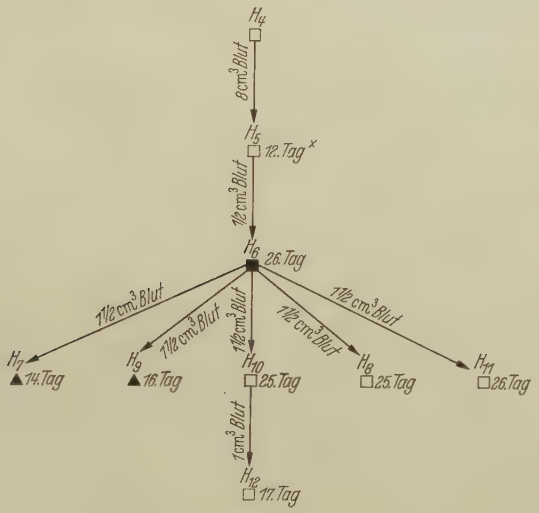


Abb. 1.
□ = E-Stadien negativ,
▩ = E-Stadien positiv,
▲ = E-Stadien positiv = EE-Frühinfektion,
× gerechnet vom Impftage ab.

Vom Impftage ab gerechnet war:

das Blut von	H_6	am	7.	Tag	(+),	am	11.	Tag	+++,	am 20. Tag	⊖,
„ „ „	H_7	„	8.	„	(+),	„	14.	„	+++,		
„ „ „	H_9	„	8.	„	(+),	„	16.	„	+,		
„ „ „	H_{10}	„	10.	„	(+),	„	14.	„	++,	„ 20. „	⊖,
„ „ „	H_8	„	9.	„	(+),	„	14.	„	+,	„ 23. „	⊖,
„ „ „	H_{11}	„	8.	„	(+),	„	11.	„	+,	„ 18. „	⊖,
„ „ „	H_{12}	„	17.	„	++.						

Nachdem bei drei Tieren hintereinander zu Beginn der ersten akuten Blutinfektion entnommenes Impfblut zu keiner EE-Frühinfektion Anlaß gab, mithin

[5] Die Intensität der Blutinfektion ist wie folgt gekennzeichnet:

(+) 1— 10 Parasiten in 100 Gesichtsfeldern,
(++) 11—100 Parasiten in 100 Gesichtsfeldern,
(+++) 1— 2 Parasiten in 1 Gesichtsfeld (Mittelwert aus 10 Gesichtsfeldern),
\+ 2— 10 Parasiten in 1 Gesichtsfeld,
++ 10— 20 Parasiten in 1 Gesichtsfeld,
+++ mehr als 20 Parasiten in 1 Gesichtsfeld.

Vergrößerung etwa 500fach.

als frei von E-Stadien anzusehen war, wurden, sobald H_4 eine deutliche Blutinfektion (+) zeigte, 8 ccm Blut auf H_5 intramuskulär übertragen. Wie zu erwarten, war das Gehirn des am 12. Tage p. i. getöteten Tieres H_5 E-stadienfrei. An diesem Tage wurde $^1/_2$ ccm Blut + von H_5 auf H_6 i. m. überimpft. Da eine EE-Frühinfektion nicht zu erwarten war, wurde bei diesem Tier ab 21. Tage p. i. das Blut auf E-Stadien untersucht. Am 25. Tage p. i., 5 Tage nach abgeklungener Blutmalaria, gelang es ganz vereinzelt, E-Stadien im Blutausstrich aufzufinden. Am 26. Tag p. i. wurden je $1^1/_2$ ccm Blut von H_6 auf 5 Tiere H_7—H_{11} i. m. überimpft. Das am selben Tage untersuchte Gehirn von H_6 wies reichlich E-Stadien auf, die aus erythrocytären Parasitenformen hervorgegangen sein mußten. Die Voraussetzung zu entscheiden, ob auch aus E-Stadien, die aus Blutparasiten hervorgegangen sind, EE-Frühinfektionen sich entwickeln können, schien also gegeben. H_7, der am 14. Tage p. i. einging, sowie H_9, der am 16. Tage p. i. getötet wurde, wiesen E-Stadien im Gehirn auf, während bei H_8 und H_{10} am 25. Tage p. i. und H_{11} am 26. Tage p. i. keine E-Stadien im Gehirnausstrich gefunden werden konnten, da wohl bei letzteren 3 Tieren die E-Stadieninfektion bereits abgeklungen war. Von H_{10} am 25. Tage p. i. auf H_{12} übertragenes Blut führte, wie zu erwarten war, am 17. Tage p. i. zu einem negativen E-Stadienbefund. (Der Verlauf der Blutinfektion der einzelnen Tiere ist in der Fußnote zu Abb. 1 angedeutet.)

Eine weitere Versuchsserie, auf deren Wiedergabe hier verzichtet ist, führte zu demselben Ergebnis.

Eine dritte Versuchsserie, deren Ausgangstier eine schwach ausgebildete E-Stadieninfektion des Gehirns am 28. Tage p. i. aufwies, zeigt, daß die Wahrscheinlichkeit, E-Stadien im Blute zur Zeit der E-Stadieninfektion anzutreffen, nicht immer groß ist. Je $2^1/_2$ ccm Blut dieses Hahnes wurden am 25. Tage p. i. 2 Hähnen, je 2 ccm Blut am 28. Tage p. i. 3 Hähnen i. m. injiziert, nur bei einem dieser Hähne konnte eine EE-Frühinfektion beobachtet werden.

In den in Abb. 2 wiedergegebenen Versuchsreihen ist außer Blut Gehirn zur Weiterimpfung benutzt. Während das Auffinden von E-Stadien im Blute schwierig ist, und oft vom Zufall abhängt, ist der direkte Nachweis von E-Stadien im Gehirn einfacher und sicherer zu führen, so daß die Unsicherheit, nicht bestimmt zu wissen, ob auch E-Stadien übertragen wurden, fortfällt. Das Gehirn wurde mit 0,9%iger NaCl-Lösung in Breiform gebracht i. m. in den Brustmuskel injiziert.

Von dem mit E-stadienfreiem Blut infizierten Hahn H_{13} wurde zu Beginn der Blutinfektion Blut (+) auf H_{44} und H_{45}, E-stadiennegatives Gehirn auf H_{46} übertragen (siehe Abb. 2). Am 12. Tage p. i. konnten im Gehirn von H_{46} keine E-Stadien gefunden werden. Die später am 23. Tage p. i. nach Abklingen der Blutmalaria getöteten mit E-stadienfreiem Blut infizierten Hähne H_{44} und H_{45} wiesen beide E-Stadien im Gehirn auf. Von H_{44} wurde Blut auf H_{49}, E-stadienhaltiges Gehirn auf H_{48} übertragen. Am 13. Tage p. i. konnten bei H_{48} E-Stadien im Gehirn gefunden werden, nicht dagegen bei dem mit Blut infizierten Hahn H_{49} (s. Abb. 2). E-stadienpositives Gehirn von H_{45} wurde auf H_{52}, Blut auf H_{50} und H_{51} überimpft. Am 12. Tage p. i. war der E-Stadienbefund bei H_{52} und H_{50} positiv, bei H_{51} negativ. E-stadienhaltiges Gehirn führte in beiden Fällen zur EE-Frühinfektion, während gleichzeitig entnommenes Blut nur in einem von drei Fällen zu einer EE-Frühinfektion führte.

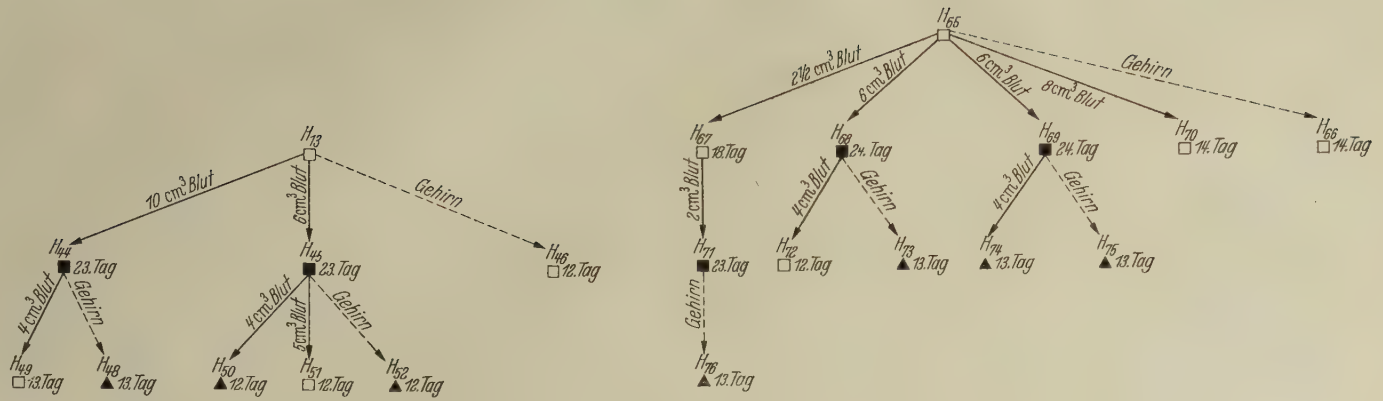


Abb. 2.
□ = E-Stadien negativ,
■ = E-Stadien positiv,
▲ = E-Stadien positiv = EE-Frühinfektion.

Vom Impftage ab gerechnet war:

das Blut von H_{44} am 10. Tag (+), am 13. Tag (++), am 17. Tag ⊖,
" " " H_{45} " 10. " (+), " 13. " +,
" " " H_{46} " 11. " (+), " 12. " (+),
" " " H_{49} " 9. " (+), " 13. " +,
" " " H_{48} " 12. " (+), " 13. " (++),
" " " H_{50} " 8. " (+), " 12. " ++,
" " " H_{51} " 8. " (+), " 12. " +,
" " " H_{52} " 10. " (+), " 12. " (++).

Vom Impftage ab gerechnet war:

das Blut von H_{67} am 12. Tag (+), am 17. Tag +++,
" " " H_{68} " 12. " (+), " 17. " ++, am 21. Tag ⊖,
" " " H_{69} " 11. " (+), " 15. " +, am 21. Tag ⊖,
" " " H_{70} " 10. " (+), " 14. " +,
" " " H_{66} " 13. " (+), " 14. " (++),
" " " H_{71} " 10. " (+), " 14. " +, am 19. Tag ⊖,
" " " H_{72} " 8. " (+), " 12. " +,
" " " H_{73} " 11. " (+), " 13. " (++),
" " " H_{74} " 8. " (+), " 13. " (++),
" " " H_{75} " 9. " (+), " 13. " (++),
" " " H_{76} " 10. " (+), " 13. " +.

In der zweiten hier wiedergegebenen Serie sind die Ergebnisse ähnlich. Blut des E-stadienfreien Hahnes H_{65} führt nicht zur EE-Frühinfektion, siehe H_{67} und H_{70}, desgleichen nicht das Gehirn, siehe H_{66}. Von den am 24. Tage p. i. untersuchten Hähnen H_{68} und H_{69} wies H_{69} reichlich, H_{68} ganz vereinzelt E-Stadien im Gehirn auf. Gehirn und Blut von H_{69} führt wieder zur EE-Frühinfektion, H_{74} und H_{75} weisen am 13. Tage p. i. reichlich E-Stadien im Gehirn auf (s. Abb. 2). Blut von H_{68} führt dagegen bei dem am 12. Tage nach der Impfung getöteten Tier H_{72} zu negativem E-Stadienbefund. Das nur schwach positive Gehirn von H_{68} erhielt H_{73}. Am 13. Tage p. i. konnte eine schwache E-Stadieninfektion in Gehirnausstrichen von H_{73} nachgewiesen werden. Blut des E-stadiennegativen Tieres H_{67} (s. Abb. 2) führt erst wieder am 23. Tage p. i. zur E-Stadienbildung im Gehirn, siehe H_{71}. Dieses E-stadienhaltige Gehirn auf H_{67} übertragen, veranlaßt, wie zu erwarten, wieder eine EE-Frühinfektion am 13. Tage p. i.

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, daß auch aus erythrocytären Parasitenformen hervorgegangene E-Stadien nach Überimpfung im neuen Wirt sich weiter entwickeln und zur EE-Frühinfektion führen können, die sich nicht von der aus Sporocoiten entstandenen E-Stadieninfektion des Gehirns unterscheiden läßt. Da nur in einem gewissen Prozentsatz zur Zeit der EE-Infektion des Gehirns entnommenes Impfblut zu EE-Frühinfektionen führt, dürfte die Wahrscheinlichkeit, E-Stadien im Blute anzutreffen, vom Stande und der Stärke der E-Stadieninfektion abhängig sein. Sind sicher aus Blutparasiten entstandene E-Stadien im Impfmaterial (z. B. Gehirn) vorhanden, so kann sich eine EE-Frühinfektion entwickeln.

Wird 2, 3, 6, 8 oder 10 Stunden nach dem Tode des Tieres E-stadienhaltiges Gehirn, das bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, i. m. überimpft, so konnten EE-Frühinfektionen beobachtet werden. Hieraus ist zu schließen, daß die E-Stadien eine Zeitlang nach dem Tode des Tieres überleben. Wurde E-stadienhaltiges Gehirn 26 Stunden bei 18° C aufbewahrt, so blieb nach seiner i. m. Überimpfung eine EE-Frühinfektion aus. Letzterer Einzelbefund bedarf jedoch noch ergänzender Versuche, ehe die Überlebensdauer der E-Stadien genauer abzugrenzen ist.

Zusammenfassung.

In Ergänzung einer früheren Arbeit ist nachgewiesen, daß auch aus erythrocytären Parasitenformen entstandene E-Stadien des Plasmodium gallinaceum nach Überimpfung im neuen Wirt sich weiter entwickeln und zu einer EE-Frühinfektion führen können, die sich morphologisch und im Verlauf von der aus Sporocoiten hervorgegangenen E-Stadieninfektion des Gehirns nicht unterscheiden läßt.

Als E-stadienhaltiges Impfmaterial diente Blut und Gehirn. Es wird gezeigt, daß E-Stadien im Blute zur Zeit der E-Stadieninfektion des Gehirns nicht regelmäßig anzutreffen sind.

Dem Verein der Freunde und Förderer der Universität Köln danke ich für die Bereitstellung von Mitteln zu dieser Arbeit.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Zagreb und dem Pharmakologischen Laboratorium Kaštel A. G.

Veratrin und Adrenalinreaktion.

Von

P. Stern und I. Ivančević.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. September 1941.)

In einer früheren Arbeit [1] über Adrenalinumkehr nach Vorbehandlung mit Mutterkornalkaloiden konnten wir mit Hilfe des von Riml [2] angegebenen Verfahrens, sowie durch die p_H-Änderung des Blutes nachweisen, daß Mutterkornalkaloide im tierischen Muskel einen Zustand hervorrufen, der dem tätigen Zustand des Organs entspricht. Die nachträgliche Injektion von Adrenalin in kleinen Mengen erweitert demgemäß die Blutgefäße der Muskulatur und es kommt nicht zur Blutdrucksteigerung. Somit wurde der Beweis erbracht, daß die durch Ergotamin verursachte Adrenalinumkehr durch Stoffwechseländerungen im Erfolgsorgan bedingt ist. Ohne vorläufig auf den feineren Mechanismus dieses Geschehens einzugehen, waren wir der Meinung, daß es sich dabei nicht um eine spezifische Sekalewirkung auf den Muskel bzw. auf den Ablauf der Adrenalinblutdruckreaktion, sondern lediglich darum handelt, daß der Muskel in Kontraktionszustand, i. e. in tätigen Zustand versetzt wird.

In weiterer Verfolgung dieser Gedanken mußten wir auch andere Alkaloide mit ausgeprägter Muskelwirkung in unseren Betrachtungskreis einbeziehen. Da kam neben anderen Krampfgiften in erster Reihe Veratrin in Betracht, denn es ist ein sehr ausgesprochenes Muskelgift, wie dies schon 1865 Kölliker [3] ausgesprochen hat. Zwar wirkt Veratrin auch auf das Zentralnervensystem, insbesondere auf Bulbospinalzentren, jedoch ist es seine reine, unmittelbare Muskelwirkung, die nach Ausschaltung aller Nervenverbindungen zustande kommt, welche uns hier in erster Linie interessiert. Der Mechanismus dieser Wirkung ist noch nicht geklärt, die Wirkung kommt aber unabhängig vom nervösen Element zustande. Der veratrinisierte Muskel zeigt eine verlängerte Kontraktion, verbunden mit Wärmeentwicklung, die größer ist als bei der normalen Kontraktion (Hartree und Hill [4]). Es war also interessant, auf dem veratrinisierten Tier die Adrenalinreaktion zu beobachten. (Über Veratrin im Zusammenhang mit Adrenalin hat u. a. Cavazzani [5] geschrieben, wir konnten

---

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 655 (1941). — [2] Ebenda **186**, 35 (1937). — [3] Heffters Handb. exper. Pharm., Bd. II, S. 253 (1920). — [4] Zitiert nach Zunz: Eleménts de Pharmacodyn. spec., Masson & Cie., 1932. — [5] Zitiert nach Heffters Handb. exper. Pharm., l. c.

jedoch die Arbeit nicht zu lesen bekommen. Der Autor hat aber den Gegenstand vom anderen Standpunkt aus behandelt, soweit es sich aus den Anführungen im zit. Handbuch vernehmen läßt.)

Zu diesem Zweck stellten wir dieselben Vorversuche an, wie in der obenerwähnten Arbeit: wir prüften die Wirkung von Veratrin auf die Nebennieren von Ratten. An Ratten von 200 g Durchschnittsgewicht wurden je 0,25 mg Veratrin subcutan verabreicht. Nach 24 Stunden wurden die Tiere geopfert, die Nebennieren herauspräpariert und histologisch untersucht. Zum Unterschied von den Kontrolltieren zeigten die Nebennieren der vorbehandelten Tiere charakteristische histologische Veränderungen. Die Untersuchungen der Präparate nahm auch diesmal Herr Prof. Saltykow vor, wofür wir ihm großen Dank schulden. In allen Nebennieren waren in den Zellen der Zona glomerulosa und fasciculata besonders große Mengen kleiner Lipoidtröpfchen sichtbar. In der Zona reticularis waren nur spärliche Lipoidtropfen in einzelnen Zellen anzutreffen. Einige Nebennieren zeigten leichte Hyperämie in dieser Zone. Die Grenzen zwischen einzelnen Zonen waren stellenweise verwischt, die Zellen selbst manchmal vergrößert.

Diese histologischen Befunde sprechen deutlich für Nebennierenrindenhyperfunktion, die wegen der durch Veratrin verursachten Muskelkrämpfe, d. h. Überbeanspruchung der Rinde logisch zu erwarten war.

Es soll nur nebenbei erwähnt werden und weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, daß die Krampfgifte Strychnin und Picrotoxin etwas abweichende histologische Bilder geliefert haben. So zeigte Strychnin neben der dichten Lipoidtröpfchenfüllung der Zona glomerulosa und fasciculata stellenweise Erweiterung der Kapillaren und kleine Blutungen, als auch Kalkeinlagerungen rings um die kleinen Gefäße. Picrotoxin zeigte ein anderes Bild: die Rinde, namentlich die Zona fasciculata war stark hyperämisch, aber die Lipoidtropfen waren da, sowie in der Zona glomerulosa wesentlich größer und spärlicher, während die Zona reticularis sehr kleine Tröpfchen besaß. Obwohl grob genommen alle drei Krampfgifte im histologischen Bild der beanspruchten Nebennierenrinden gemeinsame Züge aufweisen, sind sie in ihren Einzelheiten doch verschieden, was wohl auf die Unterschiede ihrer Grundeigenschaften und Wirkungen zurückzuführen ist. Sie führen alle zur Änderung des Muskelstoffwechsels, wobei es zur Bildung eines Stoffes kommt, der die Rindenhyperfunktion der Nebennieren auslöst. Wie eingangs erwähnt, wollten wir diesmal zuerst das Veratrin auf Adrenalinreaktion prüfen.

Methodik.

Katze in Chloralose (per os 0,06). Künstliche Atmung mit Starling-Pumpe. Vagi durchschnitten. Blutdruck an der rechten Carotis gemessen. Injektionen von Veratrin und Adrenalin erfolgten in die linke V. femoralis.

Die Tiere bekamen in der Mehrzahl der Fälle 1 mg Veratrin i. v. Adrenalin wurde in Dosen von 10—20 γ zu verschiedenen Zeiten verabreicht: vor oder gleich nach Veratrin, sowie 1—2 Stunden später. Die Blutdruckkurven wurden kymographisch dargestellt.

Von mehreren Aufzeichnungen führen wir nur zwei an (s. Abb. 1 und 2).

Wie die Abb. 1 zeigt, ist die Adrenalinblutdruckreaktion 2 Stunden nach Veratrineinspritzung bedeutend abgeschwächt. In einigen Versuchen

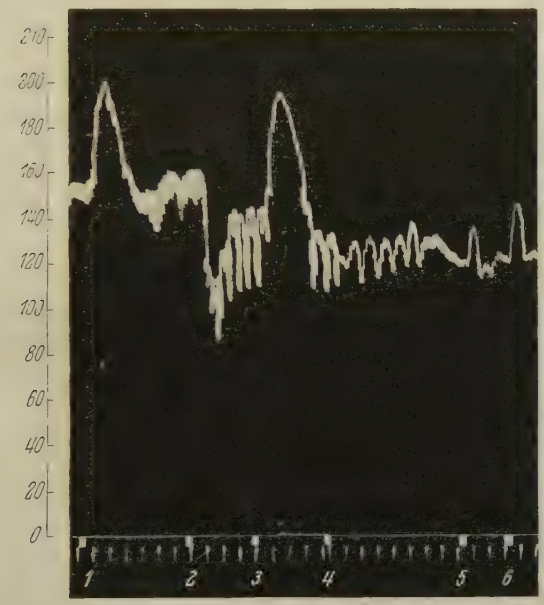


Abb. 1. Katze, ♂, 3250 g. Blutdruck in der rechten Art. carotis. Zeit 30 Sekunden. 1. 20 γ Adrenalin, 2. 1 mg Veratrin, 3. 20 γ Adrenalin, 4. Kymographion steht 2 Stunden, 5. 20 γ Adrenalin, 6. 30 γ Adrenalin.

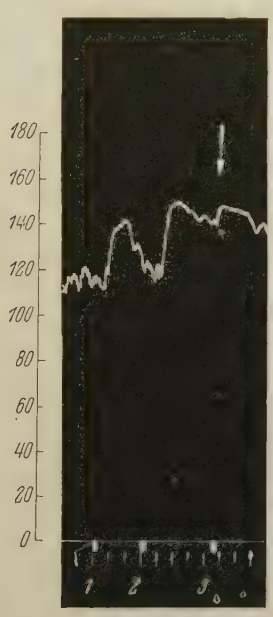


Abb. 2. Katze, ♀, 1400 g. Blutdruck aus der rechten Art. carotis. Zeit 30 Sekunden (4 Stunden vor der Narkose 0,5 mg Veratrin subcutan). 1. 10 γ Adrenalin, 2. 1 mg Veratrin, 3. 10 γ Adrenalin. (Der Pfeil bezeichnet den Gipfel der Adrenalin-Wirkung bei 3.)

ist sie gänzlich ausgeblieben. Erst nach fünffacher Adrenalindosis ist ein positiver Adrenalineffekt zu erzielen gewesen. Versucht man Adrenalin gleich oder innerhalb der ersten Stunde nach der Injektion von Veratrin zu geben, so tritt keine Änderung im Verhalten des Blutdruckes ein: es kommt zur üblichen Steigerung. Es muß eine gewisse Zeit verstreichen, bis eine Änderung im Muskelstoffwechsel eintritt. Wenn man nach Veratringaben 4 und mehr Stunden abwartet und erst dann Adrenalin gibt, so kann man beobachten, daß die Blutdrucksteigerung wohl geschwächt, aber regelmäßig eintritt. Wenn man jedoch nachträglich

eine zweite Veratrininjektion macht und dann gleich nachher die Adrenalinreaktion beobachtet, so wird sie bedeutend schwächer oder sie erscheint überhaupt nicht. Sehr lehrreich ist der Versuch, der auf Abb. 2 wiedergegeben ist. Zuerst wurden 0,5 mg Veratrin verabreicht. Erst 4 Stunden später wurde das Tier narkotisiert. Bei 1 und 3 bekam es je 10 γ Adrenalin: die Reaktion ist sehr schwach. Bei 2 wurde nach 4 Stunden wieder Veratrin gegeben, und zwar diesmal 1 mg. Nun ist die folgende Blutdruckreaktion auf 10 γ Adrenalin kaum angedeutet. Offenbar versetzt die wiederholte Veratringabe den Muskel viel schneller und ausgiebiger in den Kontraktionszustand, so daß die nachfolgende Adrenalinreaktion fast ganz ausbleibt, jedenfalls kaum angedeutet ist.

In keinem von unseren sämtlichen 8 Versuchen bekamen wir eine ausgesprochene Umkehr der Blutdruckkurve. Im Vergleich mit Mutterkornalkaloiden führte die Vorbehandlung mit Veratrin nicht zur direkten Umkehr der Blutdruckkurve durch Adrenalin, es wurde diese nur abgeschwächt oder sie erschien überhaupt nicht. Der mit Veratrin vergiftete Muskel antwortet auf Adrenalin ähnlich wie der mit Mutterkronalkaloiden vorbehandelte: eine nachträgliche Adrenalininjektion ruft entweder keine Blutdrucksteigerung oder nur eine wesentlich abgeschwächte hervor. In der durch Veratrin in Kontraktionszustand versetzten Muskulatur lösen kleine Gaben von Adrenalin offenbar Erweiterung und nicht Verengerung der Blutgefäße aus. Der Unterschied zwischen der Wirkung der Mutterkornalkaloiden und Veratrin scheint uns wohl mehr ein quantitativer zu sein. Daß aber dabei noch andere Nebenwirkungen mit im Spiele sein könnten, ist nicht von der Hand zu weisen. So wäre z. B. eine eventuelle Gefäßwandwirkung bei Mutterkornalkaloiden in Erwägung zu ziehen.

Die durch Mutterkornalkaloide herbeigeführte Adrenalinumkehr stellt also im Grunde genommen nichts Spezifisches dar; sie wird ebenso wie die Umkehr oder vielmehr das Ausbleiben der normalen Blutdrucksteigerung durch Adrenalin nach Vorbehandlung mit Veratrin — durch die Änderung der lokalen Stoffwechsellage der Muskulatur bzw. der Gewebe bedingt.

Zusammenfassung.

1. Veratrin, an Ratten subcutan verabreicht, führt zu Nebennierenrindenhypertrophie der Tiere, was durch die Überbeanspruchung der Nebennierenrindenfunktion durch Muskelkrämpfe zu erklären ist.

2. Es wurde an mit Veratrin vergifteten Katzen eine regelmäßige Abschwächung der Blutdrucksteigerung durch Adrenalin beobachtet, welche sich entweder als bedeutende Abschwächung oder als völliges Ausbleiben der üblichen Blutdruckkurve veranschaulicht.

3. Die mit Veratrin vorbehandelte Muskulatur antwortet offenbar auf kleine Gaben von Adrenalin ähnlich wie die mit Mutterkornalkaloiden vorbehandelte, nämlich mit Erweiterung der Blutgefäße. Beide Geschehen sind wesensgleich.

Aus dem Pharmakologischen Institut der westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W. (Direktor: Prof. Dr. Lendle.)

Quantitative Untersuchungen über Azetylcholinfreisetzung am Herzen bei elektrischer und pharmakologischer Vagusreizung.

Von

H. Genuit.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Februar 1941.)

Der qualitative Nachweis einer Freisetzung von Azetylcholin (A.Ch.) am Herzen und anderen cholinergisch innervierten Organen ist nach Reizung der entsprechenden Nerven mehrfach durchgeführt worden.

Untersuchungen über die mengenmäßige Abhängigkeit des freigesetzten A.Ch. von Reizstärke und Reizdauer wurden vor allem am sympathischen Ganglion cervicale superius der Katze angestellt (Feldberg und Vartiainen[1], Brown und Feldberg[2]). Ähnliche Befunde, die aber in der Größenordnung erheblich voneinander abweichen, liegen auch für die Unterkieferdrüse des Hundes vor (Literatur vgl. Gaddum[3], S. 120ff.).

Versuche über die Freisetzung von A.Ch. durch vagomimetische Stoffe sowie durch K- und H-Ionenüberschuß liegen ebenfalls vor für das Halsganglion der Katze und die Unterkieferdrüse des Hundes sowie für das isolierte Froschherz. Die Ergebnisse sind hier teilweise stark widersprechend. Am isolierten Säugetierherzen sind solche Versuche meines Wissens bisher nicht gemacht worden.

Die A.Ch.-Bildung am Säugetierherzen bei elektrischer Vagusreizung ist qualitativ in verschiedenen Kombinationen von Spender- und Testobjekt am Ganztier und am isolierten Herzen bewiesen worden (Literaturübersicht bei Gaddum[3], S. 114). Quantitative Untersuchungen liegen jedoch bisher nicht vor.

Derartigen Untersuchungen am Warmblüterherzen stehen auch verschiedene Schwierigkeiten entgegen. Bei Versuchen am Ganztier, wie sie von Feldberg und Krayer[4] durchgeführt wurden, wird immer ein Teil des gebildeten A. Ch. in den allgemeinen Kreislauf abströmen, wo es so stark verdünnt wird, daß es dem Nachweis auch mit dem empfindlichen Blutegeltest sicher entgeht.

Bei diesen Versuchen wurde das A. Ch. im Coronarblut des Hundes nachgewiesen. Technisch wurde dabei so vorgegangen, daß in den Sinus Coronarius

[1] Feldberg u. Vartiainen: J. Physiol. (Brit.) **81**, 39 P (1934); **83**, 103 (1934). — [2] Brown, G. L., u. W. Feldberg: Ebenda **86**, 290 (1936); **88**, 265 (1936). — [3] Gaddum, J.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig 1936. — [4] Feldberg, W., u. O. Krayer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 170 (1933).

eine Kanüle eingesetzt wurde. Das Coronarblut wurde von dieser Kanüle aus in die vena jugularis geleitet. Aus einem Seitenstück dieser Leitung wurden zu verschiedenen Zeiten Proben entnommen und auf ein Blutegelpräparat geleitet.

Es wäre nun denkbar, die Gesamtmenge des gebildeten A. Ch. dadurch zu gewinnen, daß man das Coronarblut während und nach der Vagusreizung über eine längere Zeit auffangen würde, bis alles A. Ch. vom Bildungsort in das Blut diffundiert ist. Die Bestimmung könnte dann durch Auswertung einer Probe von diesem Blut und Berechnung auf die Gesamtmenge des aufgefangenen Blutes geschehen.

Praktisch ist dies jedoch nicht durchführbar. Die entnommene Blutmenge würde einen sehr starken Aderlaß bedeuten. Zudem weiß man nicht vorher, wann alles A.Ch. in das Blut diffundiert ist. Bei zu kurzdauernder Blutentnahme würde man das A.Ch. nicht quantitativ bekommen; bei zu langer Entnahme würde das A.Ch. unnötig verdünnt werden und dadurch eventuell Fehler bei der Auswertung entstehen.

Dazu müßte bei der Berechnung der Gesamtmenge berücksichtigt werden, daß ein keineswegs gleichbleibender Anteil des Coronarblutes durch die Venae Thebesii fließt und dem Nachweis von vornherein entgeht. Eine weitere Fehlerquelle wäre darin zu sehen, daß ein unbestimmbarer Anteil des A.Ch. in das Herz diffundiert. Aus allen diesen Gründen, zu denen noch die Schwierigkeit einer völligen Lähmung der Blut- und Gewebsesterase* kommt, erscheint es unmöglich, mit dieser Versuchsanordnung, so brauchbar und einfach sie für den qualitativen Nachweis von A.Ch. ist, quantitative Studien anzustellen.

Auch das Herz-Lungen-Präparat erweist sich, wie die Angaben von Feldberg und Krayer[4] deutlich zeigen, für quantitative Untersuchungen über das Verhältnis von Reizstärke und -dauer zur gebildeten A.Ch.-Menge als nicht geeignet.

Langendorff-Herzen sind in der üblichen Anordnung, bei der die Coronarien mit Ringerlösung, die sich in einer Vorratsflasche befindet, durchströmt werden, ebenfalls unbrauchbar für eine quantitative Erfassung des gebildeten A.Ch.

Wie die Versuche Jendrassiks[5] gezeigt haben, ist A.Ch. bei Vagusreizung erst eine wechselnde Anzahl von Minuten nach Beginn der Reizung in der abfließenden Salzlösung nachzuweisen. Zur quantitativen Erfassung der Gesamtmenge müßte eine Anzahl von Proben reihenweise untersucht werden, was die Schwierigkeiten erhöht. Die Unterteilung in einzelne Proben ist notwendig, weil sonst eine zu starke Verdünnung des A.Ch. eintritt. Selbstverständlich wird auch hier der in das Herz diffundierte Anteil nicht mitbestimmt. In dem von Jendrassik[5] angewandten Kunstgriff, die Flüssigkeitszufuhr während der Vagusreizung abzudrosseln, um eine möglichst hohe A.Ch.-Konzentration zu erhalten, scheinen weitere Fehlermöglichkeiten zu liegen.

Der isolierte Darm als Testobjekt kann für quantitative Untersuchungen nicht benutzt werden, da ein Zusatz von Physostigmin (Ph.) zur Durchströmungsflüssigkeit als Mittel zur Esterasehemmung unerläßlich ist und dieses in den erforderlichen Konzentrationen allein schon eine zu starke Wirksamkeit am Darm hat.

Alle obengenannten Fehlerquellen wurden dadurch vermieden, daß eine von uns früher zur Untersuchung der Bindungsgröße von Pharmaka konstruierte Durchströmungsapparatur für diese Versuche brauchbar gemacht wurde. Die Methode gestattet es, das Coronarsystem eines nach

---

* Vgl. auch bei Feldberg u. Krayer[4] (S. 178), Versuche von Ammon [Pflügers Arch. **235**, 399 (1936)] über die Wirkung der Blutesterase machen es wahrscheinlich, daß die angewandten Physostigminkonzentrationen meist zu niedrig waren.

[5] Jendrassik, L.: Biochem. Z. **144**, 520 (1923).

Langendorff[6] isolierten Kaninchenherzens von durchschnittlich 6—10 g mit 15 ccm Ringer-Lockelösung im geschlossenen System zu durchströmen. Die vom Herzen abtropfende Flüssigkeit wird immer wieder durch das Herz gepumpt. Verluste durch Abströmen fallen dabei weg. Die Durchströmungszeit nach Beendigung der Vagusreizung konnte leicht so bemessen werden, daß die Diffusion des A.Ch. vom Bildungsort in Herz und Flüssigkeit vollkommen abgeschlossen war. Die Möglichkeit der Verseifung durch Gewebsesterase während dieser Zeit wurde durch Zusatz einer entsprechenden Menge Ph. ausgeschlossen. Entscheidend war, daß die oben angegebenen Größenverhältnisse zwischen Herz und Durchströmungsflüssigkeit erreicht wurden. Dadurch erst wurden mit der freigesetzten A.Ch.-Menge solche Konzentrationen erreicht, die am empfindlichsten Test, dem Blutegelpräparat, quantitativ auszuwerten waren.

Mit dieser Anordnung, die im folgenden Abschnitt näher beschrieben wird, wurde es unternommen, die Abhängigkeit der Menge des bei elektrischer Vagusreizung gebildeten A.Ch. von Reizdauer und Reizstärke zu erfassen.

Gleichartige Versuche wurden ferner angestellt bei Einwirkung verschiedener herzwirksamer Gifte, insbesondere bei spezifischer pharmakologischer Vagusreizung.

I. Methodik.

Apparatur.

Die Methode der Durchströmung der Coronarien eines isolierten Warmblüterherzens im geschlossenen Kreislauf wurde bereits in früheren Untersuchungen[7] über die Bindungsbedingungen von Digitalisstoffen an Ratten- und Meerschweinchenherzen benutzt. Für die besonderen Anforderungen der vorliegenden Versuche wurde sie entsprechend technisch weiterentwickelt.

Die Anordnung der benutzten Apparatur ist aus den Abb. 1—4 zu ersehen. Die Proportionen sind naturgetreu wiedergegeben. Der Übersichtlichkeit halber sind die Abb. 1—4 etwas schematisiert worden; aus dem gleichen Grunde wurden die Wärmemäntel um A und B weggelassen.

Zur Erläuterung der Wirkungsweise der Apparatur sei kurz folgendes ausgeführt: Mit A ist das Hauptgefäß bezeichnet. In seinem unteren Ansatz a ist ein Dreiwegehahn eingesetzt, auf dessen unteren Schenkel die Herzkanüle, die in den Anfangsteil der Aorta eingebunden wird, mit Hilfe eines kurzen Stückchens Gummischlauch angesetzt ist. Die durch das Coronarsystem strömende Flüssigkeit gelangt ja schließlich in den rechten Vorhof und von dort auf die Oberfläche des Herzens und von da zur Herzspitze, wo sie in den Trichter T abtropft. Aus dem Trichter wird die Flüssigkeit mittels der Pumpe P abgesaugt und mit Hilfe der Düse D im

[6] Langendorff: Pflügers Arch. **61**, 291 (1895). — [7] Genuit, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 285 (1937); Genuit, H., u. W. H. Eschbach: Ebenda, S. 302.

Gefäß B fein versprüht. An der Wandung von B sammelt sie sich wieder und fließt durch das Rohr b nach A zurück.

Die Flüssigkeit in A muß unter einem konstanten Druck von etwa 25—35 cm Wassersäule stehen, damit eine ausreichende Menge in der Zeiteinheit durch die

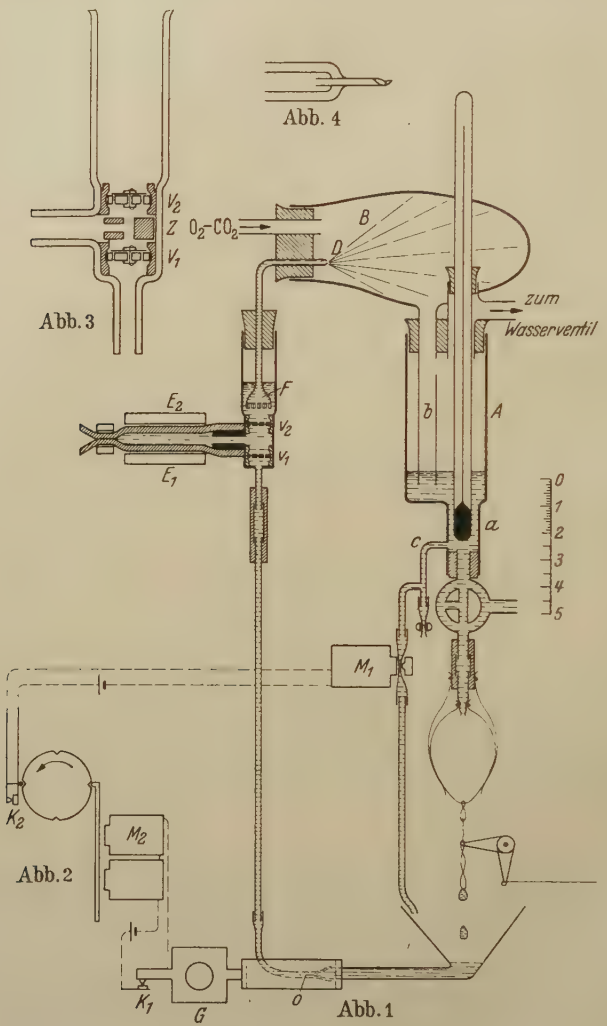


Abb. 1 bis 4. Der Maßstab am rechten Rand bedeutet cm. Abb. 3 bzw. 4 stellt die entsprechenden Einzelteile der Abb. 1 in doppelter bzw. 5facher linearer Vergrößerung dar.

Coronarien fließt. Das wird in einfacher Weise dadurch erreicht, daß das O_2—CO_2-Gemisch (s. unten), das zur Sättigung der Ringer-Locke-Lösung durch S im langsamen Strom nach B eingeblasen wird und das aus der seitlichen Öffnung von b nach A austritt, von dort einem Wasserventil zugeleitet wird, wo es ins Freie tritt. Das Wasserventil besteht einfach aus einem etwa 8—10 mm weiten Glasrohr, das

in einen mit Wasser gefüllten Standzylinder eintaucht. Die Druckhöhe läßt sich durch verschieden tiefes Eintauchen des Glasrohres beliebig variieren.

Der Dreiwegehahn bei a erlaubt eine Umschaltung auf Durchströmung mit Ringerlösung aus einer Vorratsflasche, wie sie von Heubner und Mancke[8] angegeben ist. Diese Kombination hat sich praktisch sehr bewährt, da sie erlaubt, nach jedem Versuch am geschlossenen System das Herz wieder durchzuspülen und das System mit frischer Ringerlösung zu füllen.

Zur Konstanthaltung der Temperatur im Gefäß A auf 37° C war es erforderlich, die Wärmemäntel getrennt zu durchströmen. Durch den Mantel von A zirkulierte das Wasser des Thermostaten, in dessen Kammer die ganze Apparatur untergebracht war. Die Temperatur betrug 37° C. Der Mantel B wurde von einem besonderen kleinen Thermostaten aus durchströmt, dessen Temperatur etwa 39° C betrug. Diese Übertemperatur war notwendig, um den Wärmeverlust, den die das Herz durchströmende Ringerlösung auf dem nicht gewärmten Rückweg vom Trichter nach B erlitt, auszugleichen.

O_2-Sättigung der Ringerlösung.

Die erforderliche Sättigung der Ringerlösung mit O_2 bereitete anfangs Schwierigkeiten. Üblicherweise wird die Sättigung einer Flüssigkeit mit einem Gas dadurch erreicht, daß die Flüssigkeit mit feinen Gasblasen durchperlt wird. Diese Methode war bei der hier beschriebenen Apparatur nur für die Vorratsflaschen, nicht dagegen für seinen wesentlichen Teil, das geschlossene System, anwendbar. In kurzer Zeit reicherten sich nämlich aus dem Herzen ausgewaschene Eiweißstoffe in der Flüssigkeit derart stark an, daß bei Durchperlung mit Gasblasen eine heftige Schaumbildung verursacht wurde. Der Schaum wurde durch das Wasserventil nach außen getrieben, brachte in kurzer Zeit einen so starken Flüssigkeitsverlust mit sich, daß eine Fortführung des Versuchs unmöglich war. Um die Schaumbildung zu vermeiden und trotzdem eine möglichst große Berührungsfläche zwischen Gas und Flüssigkeit zu schaffen, wurde umgekehrt verfahren und die Flüssigkeit im Gasraum fein versprüht. Diese Methode erwies sich als sehr gut, weil dabei auch bei langdauernden Versuchen kaum eine nennenswerte Schaumbildung auftritt. Sie macht die ganze Anordnung erst brauchbar.

Als Durchströmungsflüssigkeit wurde eine Ringer-Locke-Lösung von folgender Zusammensetzung verwendet: NaCl 0,85%; KCl 0,021%; $CaCl_2$ 0,021%; $NaHCO_3$ 0,1%; Dextrose 0,1%. Die Belüftung geschah, wenn nicht ausdrücklich anders angegeben, nicht mit reinem Sauerstoff, sondern mit einem Gemisch von 95 Vol.% O_2 und 5 Vol.% CO_2. Dadurch stellt sich bei einem Gehalt von 0,1% $NaHCO_3$ ein p_H von 7,3 bis 7,4 ein. Die Pufferkapazität war ausreichend. Kontrollversuche ergaben, daß sich der p_H auch in langdauernden Versuchen nicht änderte.

Pumpe.

Die Düse (s. auch vergr. Abb. 4), mit der die Flüssigkeit versprüht wird, besteht aus dem vorderen etwa 5 mm langen Stück einer langangeschliffenen Kanüle (Nr. 16—17) aus V_2A-Stahl, die in ein dünnes Rohr aus Jenaer Glas eingeschmolzen ist. Der vordere Teil der Spitze ist gegen die Öffnung aufgebogen. Die Flüssigkeit wird in scharfem Strahl gegen das aufgebogene Ende geschleudert und dadurch sehr fein versprüht. Die angegebene Kanülenweite ist ausreichend für ein Minutenvolumen von 30—50 ccm. Um diese Menge durch die feine Kanüle zu pressen, ist ein Druck von etwa 0,5—0,8 Atm. erforderlich. Die Pumpe und besonders die

[8] Heubner, W., u. R. Mancke: Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. V 7, 8, S. 885.

Ventile mußten für diese Anforderungen besonders konstruiert werden. Außerdem war Wert darauf zu legen, daß möglichst wenig toter Raum entstand, damit die zirkulierende Flüssigkeitsmenge möglichst klein gehalten werden konnte. Die vergrößerte Abb. 3 zeigt die letzte Entwicklungsstufe der Pumpe. Die Ventile (V_1 und V_2) bestehen aus dem zentralen auf etwa 8 mm Durchmesser abgeschliffenen Teil einer Porzellanfilterscheibe mit insgesamt 9 Löchern. Auf der Druckseite jedes Ventils ist ein Stückchen Condomgummi mit Hilfe eines kleinen Stückchens von einem Mandrin einer Kanüle Nr. 17 und zwei etwas stärkeren Gummischeibchen befestigt (s. Abb. 3). Das Zwischenstück Z (aus Glas oder Gummi) verhindert ein Heruntergleiten des Ventils V_2 und vermindert gleichzeitig den toten Raum. Das seitliche Schlauchstück hat eine Länge von 6 cm, ein Lumen von 7 mm und eine Wandstärke von 2,5 mm. Die 30 mm lange Platte E_1 steht fest. Die Platte E_2 wird 160–200mal in der Minute von einem kräftigen Motor hin und her bewegt Die Exkursionen von E_2 betragen 2–3 mm. Das Ansaugen der Flüssigkeit wird durch die Eigenelastizität des Schlauches besorgt. Es erwies sich als notwendig, um Verstopfungen zu vermeiden, vor die Düse D ein Filter F bestehend aus einem Glasfilter von 10 mm Durchmesser und Porenweite 2 zu schalten. Der freie Raum über dem Filter dient als Windkessel, der den Wirkungsgrad der Pumpe verbessert.

Die Pumpe ist immer auf ein größeres Minutenvolumen eingestellt als dem Coronarminutenvolumen entspricht, damit für etwaige Vergrößerungen des Coronarminutenvolumens eine Leistungsreserve vorhanden ist. Ohne Zusatzeinrichtung würde das ein Ansaugen von Luft durch den Trichter T zur Folge haben. Diese angesaugte Luft würde aber schon in der Pumpe zu Schaumbildung führen, die durch das Versprühen nicht ganz wieder beseitigt werden könnte. Zur Vermeidung des Ansaugens von Luft wurde der Trichter um den Punkt O drehbar angeordnet und mit einem Gegengewicht G versehen. Sinkt der Flüssigkeitsspiegel im Trichter unter ein einstellbares Niveau, so kippt er nach oben und schließt den Kontakt K_1 Dadurch wird der Stromkreis des Magneten M_1 geöffnet und dieser gibt den Nebenweg c von A zum Trichter frei. Dabei fließt jedesmal eine abgemessene Flüssigkeitsmenge (s. weiter unten) in den Trichter, die genügt, um den Trichter nach unten kippen zu lassen und damit den Kontakt K_1 zu öffnen.

Messung des Coronarminutenvolumens.

Mit Hilfe des Kipptrichters und einer kleinen Zusatzschalteinrichtung ist es möglich, das Coronarminutenvolumen kurvenmäßig mit aufzuzeichnen. Es ist möglich, die Pumpenleistung sehr konstant zu halten, wenn man die Tourenzahl des Motors durch einen Zentrifugalregulator (Grammophonregulator) regelt. Die Menge der Flüssigkeit, die jedesmal bei einem Kontaktschluß von K in den Trichter strömt, läßt sich ebenfalls konstant halten. Die Flüssigkeit steht ja in A unter konstantem Druck. Sorgt man dafür, daß die Öffnung des Magneten M_1 jedesmal eine ganz bestimmte immer gleiche Zeitspanne dauert, so wird die ausfließende Flüssigkeitsmenge immer die gleiche sein. Die gleichlange Öffnung des Magneten M_1 wird durch die in Abb. 2 dargestellte Schalteinrichtung bewerkstelligt. Diese besteht aus einer Scheibe R mit 4 gleichweit voneinander entfernten Einkerbungen. Diese Scheibe sitzt mit einer gewissen Reibung auf einer mit konstanter Geschwindigkeit (etwa 16 Umdrehungen/Min.) angetriebenen Achse. Ist der Kontakt K_1 geöffnet, so wird die Scheibe R von der Sperrklinke am Anker des Magneten M_2 festgehalten. Der Kontakt K_2 und damit der Stromkreis des Magneten M_1 ist geschlossen. Wird der Kontakt K_1 geschlossen, so wird der Anker des Magneten M_2 angezogen, die Scheibe R kann die Drehung ihrer Achse mitmachen. Dabei drückt sie den Kontakt K_2 auseinander und öffnet damit den Stromkreis von M_1, der den Nebenweg von A zum Trichter freigibt. Dadurch wird K_1 wieder geöffnet; die Sperrklinke und K_2 rasten in die nächste Kerbe ein.

Die Zahl der Stromschlüsse von K_1 wird mit Hilfe eines Impulszählers als Ordinate in der Richtung von oben nach unten aufgezeichnet. Fließt keine Flüssigkeit durch das Coronarsystem, so gibt die Länge der Ordinate die Pumpenleistung wieder. Bei einem bestimmten Coronarminutenvolumen ist die Länge der Ordinate gleich der Differenz aus Pumpenleistung und Coronarminutenvolumen. Zieht man durch den Endpunkt der Ordinate, die die Pumpenleistung wiedergibt, eine Nullinie, so gibt die Entfernung der Ordinatenendpunkte von dieser Nullinie direkt die Höhe des Coronarminutenvolumens an. Bei unserer Apparatur floß (bei einem Druck von etwa 30 cm Wassersäule in A) bei jedem Kontaktschluß von K_1 1,5 ccm Ringerlösung in den Trichter.

Die zirkulierende Flüssigkeitsmenge.

Bei den Versuchen mit Kaninchenherzen, die ein Gewicht von 6—10 g hatten wurden einheitlich 15 ccm für eine genügende Systemfüllung gebraucht. Es kann natürlich jede beliebige größere Menge verwandt werden, wie das bei anderen Versuchen zum Teil erforderlich war.

Berechnung der gesamten Azetylcholinmenge.

Die Berechnung der gesamten Azetylcholin (A.Ch.)-Menge aus der am Blutegelpräparat ermittelten Konzentration hatte nicht auf die 15 ccm Durchströmungsflüssigkeit zu erfolgen. Versuche mit zugesetzten A.Ch. ergaben, daß sich dieses auf die Gesamtmasse des Systems gleichmäßig verteilt, also auf Durchströmungsflüssigkeit plus Herz. Dabei ist noch eine technische Besonderheit zu erwähnen. Die Herzhöhlen enthielten immer etwas Flüssigkeit. Bei Umschaltung von der Vorratsflasche auf geschlossenes System würde die Systemfüllung um diesen Betrag zunehmen. Die Menge der jeweils in den Herzhöhlen befindlichen Flüssigkeit kann während des Versuchs nicht bestimmt werden. Um Ungenauigkeiten zu vermeiden, wurde wie folgt verfahren: Bei der Umschaltung wurde die Flüssigkeitszufuhr zum Herzen durch eine Achteldrehung des Dreiwegehahnes unterbrochen. Die Umschaltung erfolgte, wenn nur noch ganz langsam ein Tropfen von der Herzspitze abfiel. Die Abdrosselung war meist bis zu einer Minute erforderlich. Sie schädigte das Herz nicht. Am Schluß des gesamten Versuchs wurde die gleiche Abdrosselung vorgenommen, sodann das Herz von der Kanüle gezogen, kurz zwischen Filtrierpapier getrocknet und gewogen. Ebenso wurde die vom Filtrierpapier aufgesaugte Flüssigkeitsmenge bestimmt, die zwischen 1,5 und 3,0 g schwankte. Die Berechnung erfolgte also auf 15 plus Herzgewicht plus abgepreßte Flüssigkeit. Irgendwie ins Gewicht fallende Ungenauigkeiten wurden bei diesem Vorgehen sicher vermieden.

Herstellung des Herzpräparates.

Das Herz wurde in ähnlicher Weise isoliert, wie es von Hildebrand[9] für das Meerschweinchenherz beschrieben ist. In leichter Äthernarkose wurde in die rechte vena jugularis eine Kanüle eingebunden, die mit einer Ringerlösung enthaltenden Mariotteschen Flasche verbunden war. Dann wurde die Bauchhöhle des Tieres eröffnet und die Aorta angeschnitten. Gleichzeitig wurde der Zufluß durch die Kanüle in der vena jugularis freigegeben. Mit dieser Durchspülung vermeidet man die Bildung von Thromben im Anfangsteil der Aorta sicher. Die Durchspülung wurde fortgesetzt, bis das Tier aufhörte zu atmen. Sodann wurde die Brusthöhle eröffnet, die venae pulmonales mit einem Scherenschlag abgetrennt und eine kurze Glaskanüle in die Aorta ascendens eingebunden. Die Kanüle war vorher an die

[9] Hildebrand, F.: Pflügers Arch. **202**, 299 (1924).

Mariottesche Flasche angeschlossen worden. Dann wurde der linke Vagus vorsichtig freipräpariert und das Herz nach völliger Isolierung an die Apparatur angeschlossen.

An der in die Aorta eingebundenen Kanüle war ein Stück Condomgummi (7×8 cm) befestigt, wie es die Abb. 1 im Schnitt zeigt. Dieses dünne Gummi legte sich nach Einbinden der Kanüle mantelförmig um das Herz und bedeckte auch die Austrittstelle der Durchströmungsflüssigkeit am rechten Vorhof. Mit dieser Methode wurde ein sonst sehr lästiges Abspritzen von Flüssigkeit verhindert, welches bei einer kräftigen Vorhofskontaktion, besonders, wenn das Herz einige Zeit durch Vagusreizung stillgestellt worden war, eintrat.

Herstellung des Blutegelpräparates.

Das Rückenmuskelpräparat vom Blutegel wurde in der von Minz [10] näher beschriebenen Weise hergestellt. Das Badvolumen betrug 2,0–2,5 ccm. Zur Eichung wurde A.Ch. der Firma Hoffmann La Roche* verwandt. Die Verdünnungen wurden mit Ringer ohne Bicarbonat hergestellt. Die zu testende Endverdünnung mit Bicarbonat und Physostigmin (Ph.) enthaltender Ringerlösung hergestellt und so fertig nach Ablaufenlassen der Badflüssigkeit zum Blutegel gegeben. Dies Vorgehen erwies sich zur Erzielung gleichmäßiger Ergebnisse als notwendig. Es zeigte sich nämlich, daß, wenn die Endkonzentration durch Zugabe kleiner Mengen (0,05 bis 0,1 ccm) einer entsprechend konzentrierten Lösung zur Badflüssigkeit hergestellt wurde, die Reaktion bei manchen Präparaten wesentlich stärker war als bei der anderen Applikationsart. Zur Sensibilisierung erwies sich eine Ph.-Konzentration von 1 : 500000 in den meisten Fällen als ausreichend. Zur Verwendung kamen nur Präparate, die auf eine Konzentration von A.Ch. 1 : 400 Mill. mit einer deutlichen Kontraktur reagierten (etwa 1–3 cm bei einer Beobachtungszeit von 2 Min. und einer Hebelübersetzung von 1 : 13). Daneben wurde immer ein zweites Blutegelpräparat hergestellt, welches nicht sensibilisiert wurde. Wenn eine Probe am sensibilisierten Präparat wirksam war, wurde sie auch am nicht-sensibilisierten geprüft, um festzustellen, ob ihre Wirksamkeit tatsächlich auf der Anwesenheit von A.Ch. beruhte.

Die einzelnen Werte der Eichkonzentrationen bildeten eine geometrische Reihe mit dem Faktor 1,4. Sie unterschieden sich demnach jeweils um 40%. Die Bestimmung der unbekannten Konzentration, die zwischen 2 solche Eichwerte eingeschachtelt wurde, war demnach mit einer Genauigkeit von ± 20% möglich.

Als Badflüssigkeit wurden 4 Teile der für das Herz verwendeten Ringerlösung mit 1 Teil Aqu. dest. verdünnt. Die Empfindlichkeit des Blutegels war dabei ausreichend. Vor allem aber entstanden keine Reaktionen, wenn die für das Herz gebrauchte Lösung nach entsprechender Verdünnung und Abkühlung auf den Blutegel gebracht wurde. Die in den Proben aus den Herzversuchen enthaltenen höheren Ph.-Konzentrationen verursachten in den meisten Fällen während der Einwirkungszeit von 2 Min. keinen Tonusanstieg. Wurde der Blutegel in anderen Salzlösungen suspendiert — z. B. in der von Ammon [11] angegebenen Spezialringerlösung, so ergab der Wechsel dieser Lösung gegen die 4 + 1 verdünnte Ringer-Locke-Lösung meist eine sehr störende Leerreaktion. Da die entstehende Konzentration von A.Ch. bei den Herzversuchen relativ gering waren, konnten diese Leerreaktionen durch stärkere Verdünnung der Proben nicht vermieden werden.

---

* Der Firma Hoffmann La Roche danken wir auch an dieser Stelle für die bereitwilligst überlassenen größeren Mengen Azetylcholin.

[10] Minz, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 292 (1932). — [11] Ammon, R. u. Kwiatowski: Pflügers Arch. **234**, 269 (1934).

II. Vorversuche über die Wirkungsbedingungen des Physostigmins.

1. Lähmung der Gewebsesterase durch Physostigmin.

Um das bei Vagusreizung frei werdende A.Ch. quantitativ zu gewinnen, ist es eine unerläßliche Voraussetzung, seine Zerstörung völlig zu hemmen, d. h. die Esterase 100%ig zu lähmen. Die Wirkung der Blutesterase fällt bei unseren Versuchen, bei denen Ringerlösung als Durchströmungsflüssigkeit verwandt wird, weg. Bleibt die Gewebsesterase, über deren Wirkungsgrad man sich erst ein Bild machen muß. Die Versuchsergebnisse von Plattner und Hintner[12] sind nicht ohne weiteres auf unser Versuchsobjekt zu übertragen. Diese Autoren stellen fest, daß die Cholinesterase im Herzmuskelbrei des Kaninchens, die auf das dreifache Volumen mit Ringerlösung verdünnt wurde, durch eine Ph.-Konz. von 1 : 3000 vollkommen gehemmt wurde. Die eben noch völlige Fermentlähmung bewirkende Grenz-Konz. wurde dabei nicht bestimmt. Vermutlich liegt diese niedriger als 1 : 3000. Nach Ammon[13] besitzt Herzmuskelextrakt in wesentlich geringerem Maße die Fähigkeit, A.Ch. zu verseifen als das Blut. Versuche von Ammon[13] und von Zinnitz und Rentz[14] ergaben, daß zur Hemmung der in einer 0,5—1,0%igen Verdünnung von Menschenserum vorhandene Esterase, Ph.-Konzentrationen von 1 : 500000 bis 1 : 50000 erforderlich sind.

Wie Galehr und Plattner[15] in vergleichenden Untersuchungen über das Blut des Menschen und verschiedener Tierarten feststellten, enthält das Kaninchenblut weniger Esterase als das Menschenblut.

Da es sich bei unseren Versuchen nicht um Herzmuskelbrei, sondern um intakte Herzmuskelzellen handelte, und da außerdem die angewandten A.Ch.-Konzentrationen wesentlich niedriger waren als in den zitierten Arbeiten, ergab sich die Notwendigkeit, die Esterasewirkung unter unseren Versuchsbedingungen zu prüfen und die zur völligen Hemmung erforderliche Ph.-Konzentration zu ermitteln. Zu diesem Zweck wurde folgende Versuchsanordnung getroffen: Dem System Herz plus zirkulierende Flüssigkeitsmenge wird A.Ch. zugesetzt, so daß eine Konzentration von etwa 1 : 50 Millionen entsteht. Nach 1 und 10 Minuten wird je eine Probe von 3 ccm entnommen und am Blutegel ausgewertet. Das A.Ch. wie auch alle anderen Pharmaka wurden in den Trichter gegeben. Es zeigte sich, daß die gleichmäßige Verteilung nach 1 Minute vollzogen war. Der Versuch ergab, daß bei Durchströmung ohne Ph.-Zusatz in 10 Minuten eine fast völlige Zerstörung des A.Ch. eingetreten war. Bei einer Ph.-Konz. von 1 : 400000 war in 10 Minuten etwa die Hälfte des A.Ch. zerstört. Erst bei

---

[12] Plattner, F., u. H. Hintner: Pflügers Arch. **225**, 19 (1930). — [13] Ammon, R.: Ebenda **233**, 490 (1934). — [14] Zinnitz, F., u. E. Rentz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 329 (1940). — [15] Galehr, O., u. F. Plattner: Pflügers Arch. **298**, 508 (1928).

einer Ph.-Konz. von 1 : 100000 gaben die beiden Proben bei 1 und 10 Minuten gleiche Reaktion am Blutegel.

Gegen dieses Ergebnis könnte eventuell der Einwand gemacht werden, daß die Hemmung der A.Ch.-Esterase durch das Ph. ein langsamer Vorgang ist, der etwa 15 Minuten braucht (Gaddum [3], S. 76). Daher könnte es sein, daß eine geringere Ph.-Konz., wenn sie vorher längere Zeit eingewirkt hat, auch zur völligen Hemmung genügen würde. Weitere Versuche, bei denen das Herz von Anfang an mit einer Ph.-Konz. von z. B. 1 : 200000 durchströmt wurde, zeigte aber, daß diese Konzentration in manchen Fällen nicht ausreicht: 1 : 100000 dagegen immer genügt. Die folgenden Befunde wurden dementsprechend bei einer Ph.-Konz. von 1 : 100000 manche sogar mit 1 : 50000 erhoben.

Eine Diffusion der Gewebsesterase in die Durchströmungsflüssigkeit findet anscheinend nur in ganz geringem Maße statt*. Eine A.Ch.-Verdünnung, die mit Ringerlösung angesetzt war, die 10 Minuten lang durch das Herz geströmt war, zeigte in 4 Stunden nur eine Abnahme ihrer Wirksamkeit auf die Hälfte.

Neuere Untersuchungen von Zinnitz [16] sowie Zinnitz und Rentz [14] haben gezeigt, daß am Ganztier Änderungen im Esterasegehalt des Blutes bei Vagusreizung sowie bei Einwirkung verschiedener kreislaufwirksamer Pharmaka, wie z. B. Cardiazol und Strophanthin auftreten können. Diese Schwankungen im Esterasegehalt des Blutes werden zum Teil durch die Annahme der Mobilisierung von Esterase aus den Reserven des Körpers erklärt. Es wäre denkbar, daß auch in unseren Versuchen das Übertreten von Gewebsesterase des Herzens in die Durchströmungsflüssigkeit durch Vagusreizung Cardiazol, Strophanthin eventuell auch durch Erstickung und CO_2-Überladung Änderungen erfahren könnte. Eine Beeinflussung unserer Versuchsergebnisse könnte das jedoch nicht bedingen, da ja die Esterase in ihrer Wirkung völlig durch Ph. blockiert war.

2. Eigenwirkung des Physostigmins auf das isolierte Herz.

Die Ph.-Konz., die zwecks vollständiger Hemmung der Esterase am Herzen angewandt werden mußten, hatten eine ausgesprochene Eigenwirkung auf die Herzfunktion. Diese Wirkung entsprach im wesentlichen einer langdauernden Vagusreiz- bzw. A.Ch.-Wirkung — d. h. es trat vor allem eine Frequenzverminderung und in geringerem Grade auch eine Verkleinerung der Amplitude auf. Die Wirkung wurde durch Atropin 1 : 1 Million bis 1 : 500000 vollkommen aufgehoben.

Auffällig dabei war nun folgendes: Wurde die Durchströmung von der Vorratsflasche, die nur Ringerlösung enthielt, auf das geschlossene

* Im gleichen Sinne ist eine Bemerkung von Loewi [Pflügers Arch. **214**, 678 (1927)] zu deuten, welcher fand, daß der Kanüleninhalt einer Vagusreizperiode nach 24 Std. noch wirksam war.

[16] Zinnitz, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 316 (1940).

System mit einer Ph.-Konz. von 1 : 100000 umgeschaltet, und damit 10 Minuten lang durchströmt, so zeigte sich am Herzen eine bestimmte Wirkung. Wurde am Ende der Periode von 10 Minuten wieder auf Ringerdurchströmung zurückgeschaltet, so erholte sich die Frequenz — jedoch

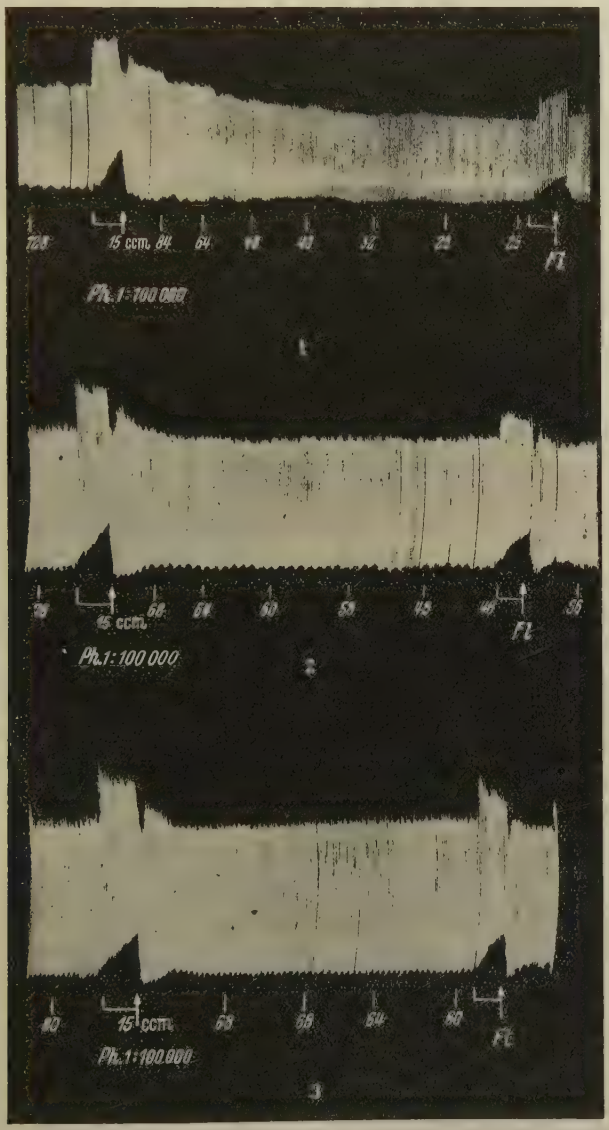


Abb. 5. Gleichartige Versuchsperioden von je 20 Minuten nacheinander an demselben Herzen. Die Perioden 2 und 3 sind nur scheinbar kürzer als 1, weil das Kymo langsamer gelaufen ist. Die Amplitudenänderung bei dem Zeichen ⌊↑ ist eine Folge der auf S. 657 beschriebenen Art der Umschaltung. Die Zahlen unter jeder Kurve geben die Herzfrequenz an.

im Verlauf von 20 -30 Minuten nicht vollständig. Erfolgte danach erneut eine Umschaltung auf geschlossenes System mit Ph. in der gleichen Konzentration, so war die Wirkung in der nun folgenden Versuchsperiode viel weniger ausgesprochen. In der gleichen Richtung war die Wirkung bei einer dritten Versuchsperiode von 10 Minuten verändert. Abb. 5 zeigt einen typischen Versuch dieser Art.

Es wurde zunächst daran gedacht, daß diese Erscheinungen über die durch die „Vagusrestfunktion" bedingte — eventuell zu den einzelnen Zeiten verschieden große — A.Ch.-Produktion erklärt werden könnte. Die Überlegungen hinsichtlich der zeitlichen Verhältnisse bei der Besprechung der Vagusrestfunktion (s. dort) lassen aber eine solche Erklärungsmöglichkeit nicht als wahrscheinlich erscheinen. Die Auswertung der Abb. 5 entsprechenden Versuchsperioden auf A.Ch. zeigte denn auch keine auswertbaren Unterschiede in der Wirksamkeit am Blutegel.

Anders war die Ph.-Wirkung, wenn das Herz von Anfang an mit Ph. 1 : 100000 durchströmt wurde — d. h. wenn in der Vorratsflasche auch Ph. zugesetzt war. Dann sank die Herzfrequenz vom Beginn des Versuchs bis zu seinem Ende (Dauer meist mehrere Stunden) kontinuierlich ab.

Das Physostigmin besitzt also in genügender Dosierung am autonom innervierten Organ selbst eine Vagusreizwirkung ähnlich dem Azetylcholin selbst. Sie war bei den zur Esterasehemmung erforderlichen Konzentrationen aber nicht so groß, daß sie die Beurteilung der Versuchsergebnisse störte.

3. Vagusrestfunktion.

Die im folgenden Abschnitt zu besprechende elektrische Vagusreizung hatte eine Dauer von 1—20 Minuten. Wie die Untersuchungen Jendrassiks[5] am isolierten Kaninchenherzen zeigen, ist es schwierig zu sagen, in welcher Zeitspanne das freigesetzte A.Ch. in die Durchströmungsflüssigkeit diffundiert. Um sicherzugehen, daß die Diffusion beendet war, wurde die Durchströmungszeit im Kreislauf reichlich bemessen. Sie betrug 10, in anderen Versuchsreihen 20 Minuten. Bei pharmakologischer Reizung betrug sie teilweise auch 40 Minuten. Es war nun wichtig zu wissen, ob in Leerversuchen, also bei einfacher Durchströmung mit Ph.-haltiger Ringerlösung schon eine am Blutegel wirksame Substanz in die Flüssigkeit übertritt. Man mußte dies von vornherein als wahrscheinlich annehmen. Nach den Angaben in der Literatur (Zusammenstellung bei Gremels[17]) muß angenommen werden, daß der Vagus auch nach Abtrennung von seinem Zentrum eine sogenannte „Restfunktion" hat, der eine geringe Dauerbildung von A.Ch. entsprechen würde. Tatsächlich zeigte in der Mehrzahl der Fälle die Durchströmungsflüssigkeit nach 10 bzw. 40 Minuten eine Wirkung am eserinisierten Blutegel, die am nicht sensibilisierten nicht auftrat. Auch zeigte die Wirksamkeit in vielen Versuchen eine deutliche Abhängigkeit von der Durchströmungszeit.

[17] Gremels, H.: Ergebn. Physiol. 42, 72f. (1939).

Abb. 6 zeigt eine solche Kurve. Im gleichen Sinne spricht bei Zugabe von A.Ch. zum System Herz-Durchströmungsflüssigkeit das Wirksamerwerden der entnommenen Proben im Verlauf der Durchströmung. Abb. 7 zeigt einen solchen Versuch.

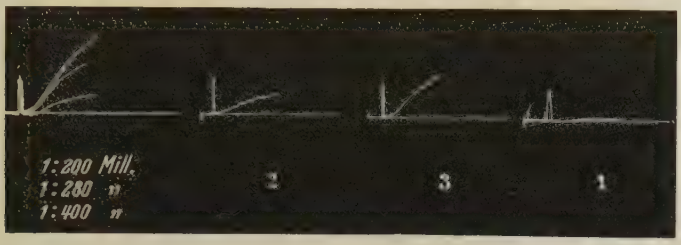


Abb. 6. Bei 1 wurde der zur Herzdurchströmung verwandte Ringer nach entsprechender Verdünnung auf den Blutegel gegeben. 2 zeigt die Wirkung derselben Ringerlösung, nachdem sie das Herz 20 Min. und bei 3 40 Min. im Kreislauf durchströmt hat. Links die Eichkurve des Blutegels.

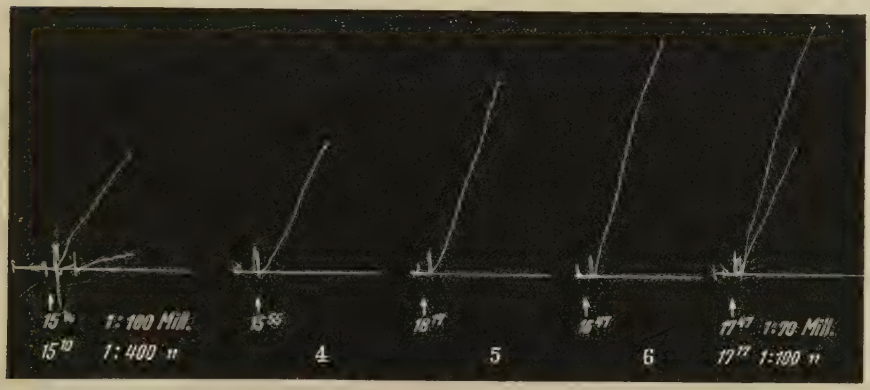


Abb. 7. zeigt das Wirksamerwerden von zugesetztem A. Ch. zur Durchströmungsflüssigkeit. Die Probe 4 wurde 2 Min., die Proben 5 und 6 20 bzw. 40 Min. nach Zusatz des A. Ch. der Durchströmungsflüssigkeit entnommen. Links und rechts Eichkurven. Zu den angegebenen Zeiten wurden die einzelnen Proben am Blutegel getestet.

Abb. 8. 4 entspricht A.Ch. 1 : 570 Mill., 5 entspricht A. Ch. 1 : 400 Mill., 6 entspricht A. Ch. 1 : 250 Mill.

Die stärkere Kontraktur ist dabei nicht auf eine Empfindlichkeitssteigerung des Blutegelpräparates zurückzuführen, wie die Eichwerte vor und nach den Proben zeigen.

Die in 20 Minuten spontan freigesetzte Menge A.Ch. war so klein, daß in unserer Anordnung selten eine Konzentration erreicht wurde, die höher

war als 1 : 400 Millionen. Diese Menge störte die Ergebnisse bei elektrischer Vagusreizung also nicht wesentlich.

Nach den obenerwähnten Literaturangaben soll die Vagusrestfunktion nach der Durchschneidung innerhalb von 50 Minuten auf einen Minimalwert absinken. Es wäre deshalb zu erwarten gewesen, daß, wenn das Herz sofort nach der Isolierung am geschlossenen System durchströmt würde, die in den ersten 20 Minuten gewonnene A.Ch.-Menge größer sein müßte als die in den folgenden 20 Minuten. Eine genauere Betrachtung der durch die Herstellung des Präparates bedingten zeitlichen Verhältnisse läßt jedoch erkennen, daß ein wesentlicher Unterschied in der Wirksamkeit der einzelnen Portionen nicht zu erwarten ist. Es vergehen nämlich von der Durchschneidung des Vagus bei der Freipräparation bis zum endgültigen Anschluß an das geschlossene System zwischen 10 und 15 Minuten. In diese Zeitspanne fällt jedoch nach den bisherigen Anschauungen die größere Menge des noch produzierten A.Ch.

Die Ergebnisse waren nicht immer ganz so eindeutig wie auf den Abb. 7 und 8. Vor allem wich manchmal die Form der Kurve am Blutegel von derjenigen einer A.Ch.-Kurve ab, so daß die Möglichkeit besteht, daß beim Zustandekommen dieser Leerreaktion auch andere Stoffe eine Rolle spielen können. Es liegt nahe, etwa ausgewaschenes Kalium dafür verantwortlich zu machen; jedoch sprechen die weiter unten noch zu schildernden Versuche mit Zusatz von Kalium gegen diese Auffassung.

Da die erreichten A.Ch.-Konz. zudem gerade an der Grenze der Empfindlichkeit des Blutegelpräparates liegen und aus diesem Grunde nicht exakt quantitativ erfaßt werden können, wird auf eine weitere Auswertung der Beobachtungen hier verzichtet.

III. Azetylcholinfreisetzung bei elektrischer Vagusreizung.

Bei den nun folgenden Versuchen, das bei elektrischer Vagusreizung freigesetzte A.Ch. quantitativ zu erfassen, wurde zur Reizung ein Schlitteninduktorium mit 2,4 Volt im Primärkreis benutzt. Die Schwingungsfrequenz des Unterbrechers betrug 46/Sek., lag also gerade noch in dem für den Vagus optimalen Frequenzbereich von 25–50 Hertz. Ein Schwingungskreis mit Instrumenten zur Messung von Spannung und Stromstärke stand nicht zur Verfügung. Die Stromstärke ist deshalb in der Tabelle 1 aus dem angegebenen Abstand von Primär- und Sekundärspule (Rollenabstand) abzulesen.

Der in der oben geschilderten Weise präparierte linke Vagus wurde nach seiner Freilegung bis dicht an die Herzbasis locker auf die Herzoberfläche gelegt und mit einem kleinen mit Ringerlösung befeuchteten Zellstofftupfer bedeckt. Eine Dauerberieselung des Nerven mit Ringerlösung erwies sich als unnötig, da sie keine besseren Resultate gab. Bei längerdauernden Reizungen wurde der Nerv vorsichtig mit der Spitze eines

kleinen angefeuchteten Tupfers bestrichen, um ein Austrocknen zu vermeiden, das sicher zur Unerregbarkeit führte.

In einem großen Teil der Versuche war der Vagus überhaupt nicht elektrisch erregbar. Nach Angaben in der Literatur (Jendrassik[5], Swiney und Spurrel[18], Feldberg und Krayer[4], Handowski und Farber[19]) soll der freipräparierte Vagus an der isolierten Lunge, am isolierten Herzen und am Herzlungenpräparat infolge mangelnder O_2-Versorgung meist nach 15 Minuten unerregbar werden. Es ist möglich, daß in den Versuchen, in denen wir keine Erregbarkeit feststellen konnten, diese doch in den ersten 15 Minuten vorhanden war. Sie wurde in unseren Versuchen jedoch dann nicht registiert, weil am Anfang eines jeden Versuchs eine Leerperiode von 10–20 Minuten eingeschaltet wurde. Im übrigen hätte eine solche kurzdauernde Erregbarkeit für die vorliegenden Versuche wenig Wert gehabt, weil dann vergleichende Untersuchungen über die bei verschiedener Reizdauer und Reizstärke freigesetzten Mengen von A.Ch. an ein und demselben Präparat nicht möglich gewesen wären. In einer Anzahl von Versuchen zeigte jedoch der Vagus über Stunden die gleiche Ansprechbarkeit auf die gleiche Stromstärke; oder die Erregbarkeit sank nur ganz wenig ab*. Diese Versuche, wenn auch in relativ geringerer Anzahl vorhanden, sind die wertvolleren und auch entscheidenden.

1. Reizdauer und Stärke.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zusammengestellt. Es zeigt sich dabei, daß innerhalb der Genauigkeit, mit der solche biologischen Auswertungen zu machen sind,

1. die freigesetzte A.Ch.-Menge bei gleicher Reizstärke der Reizdauer proportional ist,
2. bei gleicher Reizdauer der größeren Stromstärke eine größere Menge von freigesetztem A.Ch. entspricht.

Beachtenswert ist, daß in den Versuchen, in denen der Vagus nicht auf elektrischen Reiz ansprach, trotz Anwendung hoher Stromstärken kein A.Ch. gefunden wurde, eine Beobachtung, die auch von Loewi[20] bei seinen Versuchen am Froschherzen gemacht wurde. Andererseits konnte in einem Versuch, wo der Vagus ansprach, der Durchströmungsflüssigkeit aber kein Ph. zugesetzt worden war, auch kein A.Ch. nach

[18] Mc. Swiney, B. A., u. R. W. Spurrel: J. Physiol. (Brit.) **77**, 447 (1933). — [19] Handowski, H. und S. Farber, Arch. intern. Pharm. et de thér. **54**, 140 (1936). — [20] Loewi, O. u. Mitarbeiter: Pflügers Arch. **193**, 201; **203**, 408; **204**, 361, 629; **206**, 123, 135; **208**, 694; **210**, 550; **214**, 678, 689.

* Diese über verschieden lange Zeit erhaltene Erregbarkeit des Vagus spricht gegen die Annahme von Stoffwechselschädigungen in den Versuchen, wo der Vagus nur kurze Zeit erregbar war. Zeitweilig erschien es uns, als ob die Narkoseart und vor allem die Narkosetiefe von maßgeblichem Einfluß wären. Es war aber nicht das Ziel dieser Arbeit, diese Verhältnisse näher zu untersuchen.

Tabelle 1. A.Ch.-Bildung an isolierten Kaninchenherzen bei elektrischer Vagusreizung.

Versuch Nr.	Herzgewicht g	Reizdauer Min.	Rollenabstand cm	Physostigmin-konzentration	Gesamtmenge des freigesetzten A. Ch. γ
64—68	8,5	3	20	1 : 500 000	0,144
		10			0,24
103—106	7,0	2,5	14	1 : 50 000	0,024
		10			0,165
		10			0,26
109—115	5,5	2	20	1 : 50 000	θ
		14			0,098
		14			0,152
		14 *			0,137
124—129	6.1	2	27	1 : 100 000	$<$ 0,051
		4			0,073
		8			0,116
131—135	7,25	2	8	1 : 100 000	0,007
		4			0,0088
142—146	7,0	5	27	1 : 120 000	0,26
		15	40		0,078
		15	40 $D = 45^0$		θ
		5 *	27		0,22

* Versuche mit Atropinzusatz.
D = Drehung der Sekundärspule.

Tabelle 2. A. Ch.-Freisetzung an isolierten Meerschweinchenherzen (Erklärung siehe Text).

Versuch Nr.	Reiz-dauer Min.	Reaktion am Blutegel mm	Reaktion von A. Ch.-Eichkonzentrationen am Blutegel in mm					
			1 : 400 Mill.	1 : 300 Mill.	1 : 200 Mill.	1 : 150 Mill	1 : 100 Mill.	1 : 50 Mill.
34/35	2	11,0			6,5		18,5	
	5	11,0						
48/49	3	6,5			2,5		19,0	
50/51	3	12,0			6,0		21,0	
54/55	3	8,5			4,5	6,5	13,0	
	5	7,0						
56/57	3	9,5	3,5	4,5	11,5			
	3	2,5						
41/42 *	1	2,0						
	3	4 0	2,5		8,5			
	10	9,5						
37/38 *	5	17,5	11,0	21,5				
43/44 *	6	37,0					18,0	41,0
50/52 *	1	8,0						
	3	5,5			12,0			
	10	11,0						

* Versuche mit Atropinzusatz.

Vagusreizung nachgewiesen werden. Das letztere war nach den Ausführungen über die Wirkung der Gewebsesterase durchaus zu erwarten.

Hier seien noch wenige Versuche mit isolierten Meerschweinchenherzen angeführt, die in qualitativer Hinsicht das Freiwerden von A.Ch. bei elektrischer Vagusreizung am Warmblüterherzen bestätigen, die quantitativen Abhängigkeiten aber nicht erkennen lassen (Tabelle 2). Da hierbei die erhaltenen A.Ch.-Konzentrationen am Blutegel nicht mit genügender Genauigkeit zwischen zwei bekannte Eichwerte eingeschlossen wurden, wurde auf eine Berechnung der freigesetzten A.Ch.-Menge verzichtet. Um größenordnungsmäßig einen Vergleich zu haben, wurde der erzielte Ausschlag am Schreibhebel des Blutegels bei dem Inhalt der Vagus-Reizperiode und den bekannten A.Ch.-Konzentrationen in mm angegeben.

Diese im Beginn der Bearbeitung der vorliegenden Fragestellungen unternommenen Versuche wurden mit einer Ph.-Konzentration von 1 : 600000 angestellt. Literaturangaben über die zur völligen Hemmung der Herzesterase von Meerschweinchen konnten nicht gefunden werden. Vergleichbar wären vielleicht die Versuche von Handowski und Farber[19], die isolierte Meerschweinchenlungen mit Ph. in einer Konzentration von 1 : 500000 durchströmten und dann bei Vagusreizung A.Ch. in der Durchströmungsflüssigkeit feststellten. Ohne Ph. waren die Versuche negativ.

An unseren Versuchen sollte außerdem möglichst eine Eigenwirkung des Ph. vermieden werden, diese begann bei Konzentration von 1 : 500000 gerade bemerkbar zu werden. Inzwischen wurden die Versuche mit isolierten Kaninchenherzen aufgenommen und zwar vor allem in der Erwartung, aus diesen größeren Herzen auch eine größere Menge von A.Ch. zu erhalten. Wie oben gezeigt werden konnte, genügte dabei erst eine Ph.-Konzentration von 1 : 100000 zur vollständigen Esterasehemmung. Nachträglich möchten wir deshalb die Versuchsergebnisse an den Meerschweinchenherzen so deuten, daß dabei die Ph.-Konzentration von 1 : 600000 nicht ausreichte, um die Esterase genügend zu hemmen und ein Teil des bei Vagusreizung gebildeten A.Ch. jedesmal zerstört wurde.

In der in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchsreihe wurde gleichzeitig geprüft, ob bei mehrfachen gleichlangen und gleichstarken Reizen die entstehende A.Ch.-Menge die gleiche bleibt, oder ob eine Erschöpfung eintritt. Dies war nach den Ergebnissen von Feldberg und Krayer[4] am Herzlungenpräparat an sich anzunehmen. Wie die Tabelle 1 zeigt, trat eine Erschöpfung nicht ein. Im Gegenteil konnte in einem Falle bei der zweiten Reizung eine deutlich außerhalb der Fehlerbreite gelegene Mehrbildung festgestellt werden. In anderen Fällen war die auf gleiche Reize freigesetzte Menge innerhalb der Genauigkeit der Methode gleich. Abb. 8 zeigt einen Versuch mit gleicher Reizstärke, bei dem sich die Reizzeiten wie 1 : 2 : 4 verhalten.

Interessant waren weiterhin Nachprüfungen, wie groß die A.Ch.-Freisetzung war, wenn die Vaguswirkung auf das Herz durch Atropin ausgeschaltet war. Es zeigte sich, daß die Menge genau derjenigen entsprach, die ohne Atropin freigesetzt wurde. Es konnte somit die Tatsache, daß Atropin wohl die negative ino- und dromotrope Wirkung der Vagusreizung auf das Herz aufhebt, nicht jedoch die Bildung von A.Ch. hemmt, am isolierten Warmblüterherzen bestätigt werden. Andererseits konnten wir

die Befunde von Brücke's [21], der am Froschherzen unter Atropin eine auf das Doppelte gesteigerte A.Ch.-Bildung auf Vagusreiz fand, in unserer Versuchsanordnung nicht bestätigen.

2. Unterschwellige Reize.

Das Alles- oder Nichts-Gesetz der Nervenerregung sagt aus, daß bei Reizung eines Nerven eine Erregung nur dann ausgelöst wird, wenn die Reizintensität eine gewisse Schwelle überschreitet, und daß höhere Reize keine stärkere Erregung auslösen. Es wird angenommen, daß dieses Gesetz für die einzelne Nervenfaser gilt, und weiter daß die verschiedenen Fasern eine verschieden hohe Reizschwelle haben. Dadurch kommt bei der Betrachtung des Nerven als Ganzes eine gewisse Abstufung der Wirkung am Erfolgsorgan bei verschieden starken Reizen heraus. Hinsichtlich der A.Ch.-Bildung würde das bedeuten, daß unterhalb einer gewissen Stromstärke kein A.Ch. freigesetzt wird; und oberhalb davon dann die freigesetzte Menge mit der Stromstärke bis zu einem Maximumwert pro Zeiteinheit ansteigt.

Die Abhängigkeit zwischen Stromstärke und A.Ch.-Bildung konnte in Ermangelung einer entsprechenden Reizapparatur nicht so deutlich herausgearbeitet werden wie die Abhängigkeit von der Zeit bei gleicher Reizstärke (s. oben).

Besonders interessierte uns die untere Schwelle; mit anderen Worten die Frage, ob durch „unterschwellige Reize", bei denen am Herzen keine Verlangsamung eintritt, A.Ch. gebildet wird. Gremels [17] nimmt dies an und stützt seine Ansicht mit Versuchen am Ganztier, wo ein unterschwelliger Vagusreiz durch vorherige Injektion einer an sich unwirksamen A.Ch.-Menge überschwellig wird. Gremels deutet das im Sinne der Potentialtheorie so, daß die auf den unterschwelligen Reiz gebildete A.Ch.-Menge zu gering war, um ein wirksames Konzentrationspotential entstehen zu lassen. Dies wurde erst erreicht, als die zugesetzte und gebildete Menge zusammenwirken konnten. Wenn man das Alles- oder Nichts-Gesetz in bezug auf das Verhältnis Reiz-Überträgerstoff aufrecht erhalten will, muß man bei der Nervenreizung demnach zwei Schwellen unterscheiden. Die erste, oberhalb der die empfindlichsten Nervenfasern gerade A.Ch. bilden, und die zweite, oberhalb der die Menge des gebildeten A.Ch. gerade genügt, um eine Wirkung am Erfolgsorgan hervorzurufen.

Mit der vorliegenden Anordnung wurde versucht, Aufschluß über diese Verhältnisse zu gewinnen. Um ein etwa eingetretenes Unerregbarwerden des Vagus als Fehlerquelle auszuschalten, wurden nur Versuche gewertet, bei denen es gelang, einen unterschwelligen Reiz zeitlich zwischen zwei wirksame Reize einzuschalten.

---

[21] v. Brücke, F. Th.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 81 P (1937).

Die aus den entsprechenden Versuchsperioden gewonnenen Proben hatten am Blutegel keine Wirkung, die von der einer Leerperiode sicher unterschieden werden konnte, auch wenn die Reizdauer auf 20 Minuten erhöht wurde und die vor und hinterher applizierten überschwelligen Reize von viel kürzerer Dauer starke Wirksamkeit zur Folge hatten.

In einigen Versuchen, bei denen im Verlauf der Dauerreizung des Vagus die zunächst unterschwelligen Reize allmählich doch noch etwas wirksam wurden und zur geringen Frequenzminderung führten, möchte man annehmen, daß unter der Esterasehemmung durch Physostigmin doch allmählich eine Anreicherung der minimal gebildeten Azetylcholinmengen bis zum Wirksamwerden erfolgte. Die Auswertung der Durchströmungsflüssigkeit lieferte keinen sicheren Nachweis für die Anwesenheit des Überträgerstoffes.

3. Vergleichung der Wirksamkeit des freigesetzten und des zugefügten Azetylcholins.

Nach der Ermittlung der Konzentration von A.Ch., die bei wirksamer elektrischer Reizung des Vagus im geschlossenen System nach dem Ausgleich endgültig entstehen, war festzustellen, welche Konzentration von A. Ch. bei Zusatz zur Durchströmungsflüssigkeit unter den gleichen Verhältnissen zur Erzielung ähnlich starker Wirkungen erforderlich waren.

Es zeigte sich, daß diese, wie zu erwarten, wesentlich höher lagen als die auf Vagusreizung entstandenen. Das Verhältnis war meist größer als 1 : 5. Dieser Befund ist seit den Untersuchungen Loewis[20] über die humorale Übertragung von Nervenwirkungen am Froschherz aus allen gleichartigen Versuchen abzulesen. Gelang es doch nie, bei gleichempfindlichem Spender und Testobjekt an letzterem mit dem Kanüleninhalt einer Vagusreizperiode eine Wirkung zu erzielen, die ebenso stark war wie die der Vagusreizung am Spenderherzen. In einer Arbeit von Straub und Scholz[22] gelang dies einmal bei der Verwendung einer besonderen Versuchsanordnung mit Herzen von großen weiblichen Eskulenten als Spender und den empfindlichen Herzen von kleineren Tieren als Test.

Die Erklärung ist durch folgende Überlegung zu finden: Nach der Definition von Straub[23] gehört das A.Ch. zu der Gruppe der „Potentialgifte", wofür von Kahlson[24] weiteres experimentelles Beweismaterial geliefert wurde. Nach der von Straub aufgestellten und von Gremels weiterentwickelten „Potentialstofftheorie" ist die Wirkung des A.Ch. abhängig von dem Konzentrationsunterschied, der für diesen Stoff zwischen dem Zellinnern und der Umgebung der Zelle besteht.

Bei der elektrischen Vagusreizung entsteht das A.Ch. nach der herrschenden Auffassung an dessen Endigungen, die der Muskelzelle direkt

[22] Straub, W., u. J. Scholz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 331 (1936). — [23] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 127 (1907). — [24] Kahlson, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 44 (1933); Haag u. Kahlson: Ebenda, S. 56.

aufliegen. Es ist daher verständlich, daß dort lokal während der Reizung eine relativ hohe Konzentration besteht. Bei Zusatz von A.Ch. zur Durchströmungsflüssigkeit in einer Menge, die der bei Vagusreizung entstandenen entspricht, ist aus naheliegenden Gründen diese bei der Reizung lokal vorhandene hohe Konzentration natürlich nicht zu erreichen.

Man kommt diesem Ziel schon näher, wenn man das A.Ch. in die Herzkanüle statt in den Trichter injiziert. Es zeigte sich, daß bei dieser Applikationsweise A.Ch.-Mengen, die bei Zugabe in den Trichter wirkungslos blieben, dabei eine vorübergehende starke Herzwirkung ausüben konnten.

Es fiel uns auf, daß bei völliger Esterasehemmung das zugesetzte A. Ch. sehr lange Zeit brauchte, um zur vollen Wirksamkeit zu kommen. Die Wirkungszunahme hielt oft über die ganze Beobachtungsperiode von 10—20 Minuten an.

Eine Verlängerung der Latenzzeit der A.Ch.-Wirkung und Vagusreizwirkung unter Ph. wird auch von Gremels[17] beschrieben und im Rahmen der Potentialtheorie als durch eine Membranwirkung des Ph. verursacht gedeutet, die die Potentialbedingungen des A.Ch. entsprechend verändert. In den Versuchen von Gremels, der bewußt mit kleinen Ph.-Dosen arbeitet, war die Erhöhung der Latenzzeit relativ gering. Die Befunde bei unseren Versuchen mit völliger Esteraselähmung und sehr starker Verlängerung der Latenzzeit lassen eine andere Deutung vielleicht ungezwungener erscheinen.

Das A.Ch. in der zugesetzten Menge würde ohne gleichzeitige Esteraselähmung sicher gar keine oder eine eben sichtbare Wirkung am Herzen gehabt haben, weil es schnell zerstört worden wäre. Unter dem Schutz des Ph. bleibt es unzersetzt und kann auch im Zellinnern allmählich eine höhere Konzentration erreichen, die mit einer entsprechenden Wirkungszunahme einhergeht. Nach dieser Auffassung würde also in Abweichung von der Potentialtheorie die A.Ch.-Wirkung von der im Zellinnern erreichten Konzentration abhängig sein.

IV. Versuche über A.Ch.-Freisetzung unter pharmakologischen Einwirkungen.

1. Unspezifische Schädigungen.

Vor der Untersuchung, ob durch bestimmte Pharmaka, die am Herzen eine Wirkung entfalten, die der bei Vagusreizung bzw. bei A.Ch.-Applikation ähnlich ist, diese Wirkung durch etwa freigesetztes A.Ch. zustande kommt, mußten unspezifische Eingriffe mit ähnlicher Wirkung als Kontrolle untersucht werden. Als solche Schädigungen, die dazu noch den Vorteil hatten, vollkommen reversibel zu sein, waren in einer früheren Arbeit (Genuit und Wagner[25]) die CO_2-Überladung und die mangelnde O_2-Ver-

[25] Genuit, H., u. H. Wagner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 523 (1940).

sorgung des Herzens ermittelt worden. Dazu wurde noch die Wirkung von überschüssigem Kalium in der Durchströmungsflüssigkeit bei gleichzeitigem Calciummangel untersucht.

Nach Untersuchungen am Froschherzen (Beznák[26]) war es anzunehmen, daß durch Kalium A.Ch. freigemacht werden würde. Die gleiche Feststellung hatte derselbe Autor für überschüssige H-Ionen gemacht.

a) CO_2-Überladung.

Die Belüftung der Durchströmungsflüssigkeit mit stark CO_2-haltigen Gasgemischen wurde wie in der oben zitierten Arbeit vorgenommen. Der Gehalt betrug bis zu 30 Vol.-% CO_2. Der dabei erreichte p_H der Ringerlösung betrug bis 6.3. Die Herzfunktion war unter diesen Bedingungen stark geschädigt. Das Herz dilatierte stark. Die Coronargefäße waren stark erweitert. Die Amplitude war bis auf ein Minimum verkleinert: die Schlagfrequenz deutlich gesenkt. Die Säurewirkung war in ihrem Gesamtbild nicht mit einer A.Ch.-Wirkung identisch. So war die Herabsetzung der Amplitude wesentlich stärker, diejenige der Frequenz wesentlich geringer als bei Vagusreizung. Die Coronarien waren bei Vagusreizung durchweg etwas verengt, bei CO_2-Einwirkung dagegen stark erweitert.

In allen Versuchen war ein Freiwerden von A.Ch. nicht festzustellen.

b) O_2-Mangel.

Als sauerstoffarmes Gasgemisch wurde Luft verwandt, der 5 Vol.-% CO_2 zugesetzt war. Eine Änderung des p_H trat dabei, wie zu erwarten war, nicht auf. Das Wirkungsbild bei O_2-Mangel ähnelte in seinen Einzelheiten stark demjenigen bei CO_2-Überladung. Auch diese Schädigung war nach 20-minutenlanger Einwirkung gut reversibel.

Eine A.Ch.-Bildung konnte auch dabei in mehreren Versuchen nicht gefunden werden.

c) Kalium-Ionenüberschuß.

Die Wirkung eines Überschusses von $K^{\cdot}$ wurde in Konzentrationen bis 0,1% KCl geprüft, bei gleichzeitiger Abwesenheit von Ca. Dabei ist zu bemerken, daß diese Ringerlösung, wenn sie einige Zeit das Herz durchströmt hatte, nicht mehr vollkommen Ca-frei gewesen sein dürfte, da bekanntlich dabei aus dem Herzen Ca ausgewaschen wird, das dann die Lösung sekundär Ca-arm macht. Dieser Vorgang wird sich bei unserer Versuchsanordnung mit einem Verhältnis von Herzgewicht zu Flüssigkeitsmenge wie 1 : 1,5 bis 1 : 2 natürlich besonders deutlich bemerkbar gemacht haben.

Der Überschuß von $K^{\cdot}$ zeigte am Herzen die typische Amplitudenverkleinerung und Frequenzverminderung.

[26] Beznák, A. B. L.: J. Physiol. (Brit.) **82**, 129 (1934).

Am Blutegel zeigten die Proben niemals eine Kontraktur, sondern immer eine Erschlaffung. Die Tonusverminderung ist als Kaliumwirkung am Blutegel schon von verschiedenen Autoren [27] beschrieben worden. In unseren Versuchen war es natürlich wichtig, zu wissen, wie diese Kaliumkonzentrationen die Wirkung von etwa gleichzeitig vorhandenem A.Ch. beeinflussen würde. Kontrollversuche zeigten, daß die Wirkung einer bestimmten A.Ch.-Konzentration durch die gleichzeitige Anwesenheit von Kalium in obengenannter Konzentration zwar verringert wurde, daß jedoch Mengen, wie sie bei elektrischer Vagusreizung gewonnen wurden, sicher nachgewiesen werden konnten.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Beznák [13] am Froschherzen konnte am isolierten Warmblüterherzen also keine Freisetzung von A.Ch. durch Kalium festgestellt werden.

Das sympatische Halsganglion der Katze wird ebenfalls durch einen Überschuß von K-Ionen in der Durchströmungsflüssigkeit erregt. Unterschwellige Konzentrationen bewirken ein Empfindlicherwerden des Ganglions für A.Ch. Eine Freisetzung von A.Ch. ist nach Gaddum [3] (S. 123) dabei nicht anzunehmen, da die K-Ionenwirkung im Gegensatz zur A.Ch.-Wirkung nur wenig durch Ph. verstärkt wird. Brown und Feldberg [28] stellten dagegen in ihren Versuchen das Auftreten eines A.Ch.-artigen Stoffes in der Durchströmungsflüssigkeit fest, wenn K-Ionen im Überschuß zugesetzt wurden.

2. Spezifische Vagus- bzw. Nervenreizstoffe.

a) Pilocarpin.

Im Gegensatz zu den bisher geprüften Stoffen, deren Wirkungsbild deutliche Abweichungen von dem einer Vagusreizung zeigte, gleicht das Pilocarpin dem A.Ch. in seiner Wirkung auf das Herz weitgehend. Es war deshalb beim Pilocarpin viel eher zu erwarten, daß seine Wirkung über eine A.Ch.-Freisetzung zustande kommt. Der Angriffspunkt des Pilocarpins ist von verschiedenen Untersuchern (Literatur s. in Heffters Hdb. d. exper. Pharmakologie Bd. II, 2, S. 766f.) an verschiedenen Stellen angenommen worden. Am Herzen, wo eine Einwirkung auf die in der Wandung gelegenen Ganglienzellen und die Muskelzellen immer gleichzeitig erfolgt, ist eine eindeutige Festlegung des Angriffspunktes nicht möglich gewesen. Am Auge, wo die Möglichkeit einer weitergehenden Analyse nach der Durchschneidung des Nervus oculomotorius bestand, wurde für das Pilocarpin eine Wirkung auf die Nervenendigungen angenommen (Harnack und Meyer [29]), während das Physostigmin direkt auf den

---

[27] Kato, Hajime: Klin. Wschr. **1935**, S. 969; Werle, E., u. H. Übelmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 421 (1938). — [28] Brown, G. L., u. W. Feldmann: J. Physiol. (Brit.) **84**, 12 P (1935). — [29] Harnack u. Meyer: Zitiert nach Heffters Handb. exper. Pharmak. II, 2, S. 766.

Muskel wirken sollte. Die entgegengesetzte Ansicht, die den Angriffspunkt des Pilocarpins direkt in die Muskelzelle verlegt, wurde von Anderson [30] vertreten.

Wenn die Annahme einer Reizung des Nerven richtig ist, müßte man erwarten, daß diese eine Freisetzung von A.Ch. an den Endigungen bewirkt. Neuere Literaturangaben zu dieser Frage finden sich bei Secker [31], der einen A.Ch.-artigen Stoff im Speichel der Submaxillaris des Hundes nach Pilocarpingabe fand. Nach Versuchen von Feldberg und Guimarais [32] und von Gibbs [33] soll es sich dabei aber nicht um A.Ch. handeln.

Die Möglichkeit, die Frage am isolierten Herzen wieder aufzunehmen, war gegeben. Nach Hedbom [34] bewirkt eine Pilocarpinkonzentration von 1 : 10000 am Langendorff-Herz Senkung von Pulszahl und Hubhöhe; eine Wirkung, die durch Atropin 1 : 50000 aufgehoben wird. Der Rückenmuskel des Blutegels beginnt erst bei einer Pilocarpinkonzentration von 1 : 5000 gerade eben sich zu kontrahieren.

Unsere Versuche zeigten daß eine deutliche Wirkung am Herzen oft schon mit Konzentrationen von 1 : 60—40000 zu erzielen waren. Die Empfindlichkeit der einzelnen Herzen schwankte beträchtlich; zum Teil mußten Konzentrationen bis 1 : 1000 angewandt werden, um eine eben erkennbare Wirkung zu bekommen.

In allen Versuchen mit Konzentrationen, die nicht selbst am Blutegel wirksam waren, konnte eine A.Ch.-Bildung nicht festgestellt werden. Konzentrationen, die selbst den Blutegel zur Kontraktion brachten, konnten in ihrer Wirkung nicht durch eine Herzpassage verstärkt werden.

Eine A.Ch.-Freisetzung am isolierten Herzen durch Pilocarpin kann somit nicht festgestellt werden.

b) Nikotin.

Das Nikotin ruft in Konzentrationen von etwa 1 : 100000 am isolierten Warmblüterherzen Wirkungen hervor, die denjenigen einer Vagusreizung entsprechen (Literaturübersicht s. bei Dixon in Heffters Hdb. d. exper. Pharmakologie Bd. II, 2, S. 671). Der Untersuchung, ob unter der Einwirkung von Nikotin auf das Herz A.Ch. freigesetzt wird, stand bei unserer Versuchsanordnung die Tatsache entgegen, daß der eserinisierte Blutegelmuskel schon auf Nikotinkonzentrationen von 1 : 400000 mit einer sehr starken Kontraktion antwortete. Wir fanden dies auch bei Feldberg und Vatiainen [1] beschrieben und können diesen Befund bestätigen. Feldberg und Vatiainen benutzten in einer besonderen Modifikation den Blutdruck der Katze als Test. Mit dem von ihnen beschriebenen Präparat sollen noch 0,002 γ A.Ch. nachgewiesen werden können, während es auf 1 ccm

[30] Anderson: Zitiert nach Heffters Handb. exper. Pharmak. II, 2, S. 767. — [31] Secker: J. Physiol. (Brit.) **81**, 81 (1934). — [32] Feldberg u. Guimarais: Ebenda **85**, 15 (1935). — [33] Gibbs, O. S.: Ebenda **84**, 33 (1935). — [34] Hedbom, K.: Skand. Arch. Physiol. **9**, 1 (1899).

Nikotin 1 : 100000 nicht ansprechen soll. Es war uns bisher nicht möglich, den mit Hilfe dieses Testverfahrens eventuell gangbaren Weg einer Analyse der Nikotineinwirkung auf das Warmblüterherz zu verfolgen.

c) Cardiazol.

Da man vom Cardiazol als einem ausgesprochenen Nervenreizgift eventuell auch eine A.Ch.-Freisetzung in entsprechender Konzentration erwarten konnte, wurde dieses daraufhin untersucht. Wenn eine direkte Wirkung auf die Nervenendigungen auch nicht wahrscheinlich war, so konnte diese doch indirekt über eine Reizung der in der Herzwand liegenden peripheren in den Verlauf der Vagusfasern eingeschalteten Ganglienzellen zustande kommen.

Dieser Untersuchung stellten sich insofern methodische Schwierigkeiten entgegen, als das Cardiazol in der erforderlichen hohen Konzentration eine charakteristische Eigenwirkung auf den Rückenmuskel des Blutegels besitzt, die in der Literatur anscheinend noch nicht beschrieben ist.

Am nicht eserinisierten Blutegel war Cardiazol in einer Konzentration von 1 : 100 meist unwirksam. Am sensibilisierten Präparat (Ph. 1 : 500000) machten dagegen Verdünnungen von 1 : 1000 bis 1 : 3000 bereits starke Kontrakturen. Die Empfindlichkeit des nicht mit Ph. vorbehandelten Blutegels wurde durch kurze Suspension in Cardiazol 1 : 100 auf das 40fache für A.Ch. gesteigert.

Ob diese Sensibilisierung ebenso wie die Ph.-Wirkung auf einer Esterasehemmung beruht, ist vorerst nicht zu entscheiden. Zinnitz[14] stellte kürzlich mit der Methode von Ammon[13] fest, daß die Esterase von 50fach verdünntem Menschenserum durch Cardiazol 1 : 1000 nicht gehemmt wurde. Der Befund ist aber nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse am Blutegel zu übertragen, da es sich hier um die Gewebsesterase des Blutegels handelt und die angewandte Cardiazolkonzentration 10fach so hoch ist.

Cardiazolkonzentrationen, die eine sichtbare Wirkung am Herzen hervorriefen (1 : 3000), waren sämtlich auch ohne Herzpassage am Blutegel gleichstark wirksam. Konzentrationen, die am Blutegel keine Kontraktur machten, wurden durch Herzpassage nicht wirksam. Eine A.Ch.-Freisetzung durch Cardiazol konnte somit nicht festgestellt werden.

d) g-Strophanthin.

Die klinisch und tierexperimentell beobachtete Bradycardie bei der Applikation von Digitalisstoffen ist auf verschiedene Weise zu erklären versucht worden. Die ältere Auffassung von Cushny u. a. (Literaturübersicht bei L. Lendle in Heffter-Heubners Hdb. d. exper. Pharm., 1. Erg.-Werk, und H. Weese: Digitalis. Leipzig 1936), daß die Digitalisstoffe das Vaguszentrum direkt erregen, wird nicht mehr anerkannt. Die

neueren Untersuchungen vor allem von I. F. und C. Heymans, erklären die Vaguswirkung der Digitalisstoffe durch eine Sensibilisierung der pressorezeptiven Elemente des Carotissinus, die dadurch für den adäquaten Reiz, den Aortendruck, empfindlicher werden und eine Vaguserregung auf reflektorischem Wege bedingen. Außerdem wird auch von Heymans eine peripher am Herzmuskel selbst angreifende Wirkung angenommen, die diesen für den normalen Vagustonus sensibilisiert. Die Digitalisstoffe werden deshalb von Gremels[17] im Gegensatz zu den „Potentialstoffen" zu den von Straub[23] so benannten „Zustandsstoffen" gerechnet. Die Zustandsänderung der Zellmembran soll nach Gremels darin bestehen, daß durch die Digitalisstoffe eine Herabsetzung der Membranpermeabilität bewirkt wird, die, wenn sie in bestimmtem Ausmaße vorhanden ist, die Potentialbedingungen günstig beeinflußt.

Da am isolierten Organ der normale Vagustonus und damit eine A.Ch.-Dauerproduktion weitgehend wegfällt, wäre es in diesem Zusammenhang verständlich, daß eine Frequenzverminderung am isolierten Herzen mit Strophanthin fast nie zu bekommen ist. Eine Tatsache, auf die Weese[35] besonders hinweist. In jüngster Zeit ist von Kull[36] nach Versuchen am Froschherzen die Ansicht vertreten worden, daß durch Digitalisstoffe eine direkte Bildung von A.Ch. bewirkt werden könnte. Eine Anreicherung von A.Ch. durch Hemmung der Cholinesterase kommt als Erklärung für seine Befunde nicht in Frage. Aus den Arbeiten von Abdon, Nielsen und Mitarbeitern[37] sowie von Zinnitz[14] geht hervor, daß Strophanthin in den üblichen Konzentrationen die Esterase nicht beeinflußt.

Bei Durchsicht der Kurven aus unseren früheren Arbeiten ließ sich die Angabe von Weese insofern bestätigen, als tatsächlich eine Frequenzverlangsamung bei toxischen Strophanthinkonzentrationen nur selten festzustellen ist. Die Untersuchungen über durch solche Konzentrationen freigesetztes A.Ch. waren auch in einer ersten Versuchsreihe negativ. Dies Ergebnis war nach den späteren Erfahrungen (s. Esteraselähmung) durchaus erklärlich, da diese Versuche ebenso wie die in Tabelle 2 wiedergegebenen mit einer Ph.-Konz. von 1 : 400—500000 durchströmt wurden. Das Bild änderte sich, als auch hier Ph. in der erforderlichen Konzentration von 1 : 100 –50000 angewandt wurde. Dabei war auffällig, daß nun im Beginn etwa 5 –15 Minuten nach der Zugabe des g-Strophanthins in den meisten Fällen eine ausgesprochene Bradycardie auftrat, bei der auch die Amplitude verkleinert war, also ganz einer Vaguswirkung entsprechend. Danach folgte dann meist als zweite Phase eine Frequenzsteigerung mit zunehmender Kontraktur.

---

[35] Weese, H.: Digitalis, S. 198. Leipzig 1936. — [36] Kull, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 447 (1938). — [37] Abdon, N. O., u. N. A. Nielsen: Skand. Arch. Physiol. **78**, 13 (1938).

Die Auswertung der Proben am Blutegel ergab in einigen Fällen zweifelsfrei die Anwesenheit eines A.Ch.-artig wirkenden Stoffes in Mengen, die einer kräftigen elektrischen Vagusreizung entsprachen. Es wäre daraus zu folgern, daß das g-Strophanthin unter gewissen Umständen nicht nur für A.Ch. sensibilisiert, sondern selbst A.Ch. freisetzt. Diese Ergebnisse sollen im Rahmen dieser Arbeit nur kurz mitgeteilt werden. Die weitere Bearbeitung dieser Fragen, vor allem auch, ob die Freisetzung nicht nur bei Einwirkung toxischer, sondern auch bei therapeutischen Konzentrationen erfolgt, soll Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassung.

Mit einer Methode zur Durchströmung eines isolierten Kaninchenherzens im geschlossenen Coronarkreislauf werden in Kombination mit dem Blutegelpräparat quantitative Untersuchungen angestellt über die A.Ch.-Mengen, die nach elektrischer und pharmakologischer Vagusreizung freigesetzt werden.

Am isolierten Warmblüterherzen konnten bei elektrischer Vagusreizwirkung die gleichen Abhängigkeiten der gebildeten A.Ch.-Mengen von den Bedingungen der Reizgröße ermittelt werden, die bisher nur bei Reizversuchen am durchströmten sympathischen Ganglion cervicale sup. der Katze nachgewiesen worden waren.

Es wurde gefunden, daß die Menge des freigesetzten Azetylcholins

1. bei Reizen von gleicher Stärke der Reizdauer proportional ist,
2. bei gleicher Reizdauer von der Reizintensität abhängig ist,
3. bei bis zu dreimal wiederholten gleichen Reizen die gleiche bleibt — d. h. daß keine Erschöpfung eintritt.

Die bei wirksamer Vagusreizung freigesetzte und im System nachweisbare A.Ch.-Menge beträgt nur etwa ein Fünftel derjenigen Menge, die dem System zugesetzt werden muß, um eine ähnlich starke Wirkung zu erreichen. Dieser Befund wird auch in Hinsicht auf die Potentialtheorie der Azetylcholinwirkung erörtert.

Kontrollversuche, ob auch durch unspezifische Schädigungen Azetylcholin freigesetzt werden kann, ergaben für Erstickung durch O_2-Mangel oder CO_2-Überladung (p_H bis 6,3) trotz deutlicher funktioneller Schädigung keine A.Ch.-Bildung. Desgleichen hatte ein Überschuß von K-Ionen keine Wirkung in diesem Sinne.

Pilocarpin und Cardiazol bewirkten unter den möglichen Dosierungsbedingungen keine Freisetzung von Azetylcholin. Das Strophanthin dagegen scheint unter gewissen Bedingungen eine A.Ch.-Freisetzung zu veranlassen.

Einige Besonderheiten über die Wirksamkeit von Cardiazol am Blutegelpräparat werden mitgeteilt.

Aus dem Physiologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie A. G., Werk Elberfeld.

Die Reaktion der Ovarien normaler und hypophysektomierter Ratten auf Prolan nach Vorbehandlung mit natürlichem und künstlichem Brunststoff.

Von

Ernst Huf.

Mit 4 Textabbildungen (10 Einzelbildern).

(Eingegangen am 22. Oktober 1941.)

Alle Gonadotrophine zeichnen sich durch die gleiche Grundwirkung aus, die bekanntlich in einer Anregung der Follikelreifung und Luteinisierung besteht. Indem diese Prozesse im Ovarium ablaufen, kommt es dann regelmäßig zu einer Steigerung der Ovargewichte. Je nach der Herkunft der Gonadotrophine bestehen aber gewisse Wirkungsunterschiede. So ist bekannt, daß es mit den plazentären Gonadotrophinen, wozu das Prolan gehört, selbst bei Anwendung hoher Dosen nicht möglich ist, die Gewichte der Rattenovarien über das 4—5fache der Ovargewichte von unbehandelten Kontrolltieren zu steigern. Demgegenüber gelingt es mit dem aus Hypophysenvorderlappen gewonnenem Hormon leicht, höhere Vielfache zu erzielen. Diese Verhältnisse findet man z. B. in der Arbeit von de Fremery (7) dargestellt.

Nun haben aber Collip und Mitarbeiter (3) 1932 und 1935 gezeigt, daß es auch mit plazentärem Gonadotrophin gelingt, die Ovargewichte noch weiter als oben genannt, in die Höhe zu treiben, wenn man den Ratten vor und während der Verabreichung des Gonadotrophins Östron gibt. Während z. B. mit Gonadotrophin allein nur Gewichte von 64 mg erreicht wurden, lagen bei kombinierter Östron-Gonadotrophinbehandlung die Ovargewichte bei 165 mg. Die histologische Untersuchung der Ovarien ergab eine ausgedehnte Luteinisierung. Wir wollen diese Reaktion fernerhin kurz den „Collip-Effekt" nennen. Wichtig war bei den Collipschen Versuchen, daß die Vorbehandlung mit Östron nicht zu lange ausgedehnt wurde, da sonst statt des Synergismus von Östron und Gonadotrophin ein Antagonismus zutage trat.

Diese Befunde Collips und seiner Mitarbeiter sind dann später von Magath und Rosenfeld (15) sowie von Wolfe (23) bestätigt worden. Darüber hinaus finden sich noch eine Reihe weiterer Arbeiten, die dafür sprechen, daß Follikelhormon die Corpus luteum-Bildung fördern kann. Hierher gehören zunächst die Beobachtungen von Hohlweg (10), Fevold,

Hisaw und Greep (6), Westman und Jacobson (21), wonach man bei infantilen Rattenweibchen mit intakter Hypophyse durch einen Follikulinstoß allein starke Luteinisierung der Ovarien hervorrufen kann. Die letztgenannten Autoren fanden auch (20), daß die in einem Ovar fertig gebildeten Corpora lutea nach Vernichtung des darumliegenden follikulären Gewebes atrophieren, woraus gefolgert wurde, daß die Entwicklung des Corpus luteum von einer hinreichenden Menge Follikelhormon abhängig ist. Zur gleichen Schlußfolgerung kamen auf Grund anderer Versuche auch Allen (1), Donahue (5), Robson (18) sowie Klein (14).

Auf dem Boden dieser experimentellen Tatsachen haben wir uns nun vor zwei Jahren die beiden folgenden Fragen vorgelegt: 1. Läßt sich der Collip-Effekt auch mit dem 1938 von Dodds (4) hergestellten hochwirksamen künstlichen Brunststoff, dem Dioxydiäthylstilben (Stilben A) bzw. dessen Dipropionat (Stilben B) nachweisen?; und 2. Gelingt der Collip-Effekt auch bei hypophysektomierten Ratten?

Während der Durchführung entsprechender Versuche, über deren Ergebnisse wir z. T. in einer vorläufigen Mitteilung schon berichtet haben [Huf (11)], erschienen einige Arbeiten bzw. kurze Berichte von englischen und amerikanischen Verfassern über das gleiche Thema [Noble (16), Williams (22), Pencharz (17), Evans und Mitarbeiter (19)]. Auch Grein (9) hat auf unseren Versuchen fußend inzwischen über seine eigenen, der ersten der obengenannten Fragen gewidmeten Experimente berichtet.

Es besteht danach völlige Einigkeit darüber, daß der Collip-Effekt auch mit den östrogenen Stilbenen A und B gelingt, und zwar nicht nur bei Ratten mit erhaltener Hypophyse, sondern auch bei hypophysektomierten Tieren. Zu dieser Auffassung sind wir auf Grund von Versuchen gelangt, die hier nun ausführlich wiedergegeben seien.

I. Der Collip-Effekt bei normalen Ratten.

a) Versuche mit Östradiolbenzoat.

Wir haben zunächst einige Versuche mit natürlichem Follikelhormon durchgeführt, um festzustellen, ob es auch uns gelingt, den Collip-Effekt zu reproduzieren.

Eine Gruppe von 10 Ratten im Gewicht von 30—40 g erhielt vom 1.—7. Versuchstag täglich 1 mg Östradiolbenzoat in 0,2 ccm Sesamöl gelöst subcutan injiziert. Danach wurde die eine Hälfte der Versuchstiere am 8., 9. und 10. Tag mit Prolanlösung, die andere Hälfte zum Vergleich nur mit physiologischer Kochsalzlösung subcutan weiterbehandelt. Die Prolandosis betrug insgesamt 100 RE, gelöst in 1,2 ccm destilliertem Wasser. Diese Gesamtdosis wurde jedoch in 6facher Unterteilung (6mal 0,2 ccm) in möglichst gleichen Zeitabständen innerhalb von 48 Stunden an den 3 genannten Versuchstagen zugeführt. Am 13. Tag wurden die Tiere durch Einatmen von Ätherdampf in einem abgeschlossenen Raum getötet, die Ovarien sorgfältig präpariert und gewogen, wozu eine Torsionswaage diente. Alle in dieser Arbeit gemachten Ovargewichtsangaben stellen die Gewichte beider Ovarien zusammen dar.

Ganz entsprechend verlief ein Versuch mit einer zweiten Gruppe von 10 Ratten im Gewicht von 30—40 g. Diese Tiere erhielten jedoch kein Östradiolbenzoat, sondern nur das Lösungsmittel, also 7 Tage lang täglich 0,2 ccm Sesamöl subcutan.

Am Ende des Versuches lagen die Körpergewichte der Versuchstiere zwischen 56—65 g.

Als Östradiolbenzoat verwendeten wir ein Präparat vom F. P. 194°. Hiermit wurde eine ölige Lösung von der gewünschten Konzentration eigens hergestellt. — Das Prolan war ein durch Dialyse hochgereinigtes Produkt, von dem 2 γ einer I. G. Ratteneinheit (RE) entsprachen.

Da man neuerdings Prolan in internationalen Einheiten (IE) auswertet, so wollen wir unter Hinweis auf eine Arbeit, in der die Relation von RE : IE ausführlich besprochen wurde [Huf (13)], nur bemerken, daß hier der Größenordnung nach 1 RE etwa 1 IE entspricht.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 enthalten. Sie zeigen in Übereinstimmung mit den Collipschen Befunden, daß die kombinierte Follikelhormon-Prolanbehandlung zu wesentlich höheren Ovargewichten führt als die Behandlung mit Prolan allein.

Wir haben alle Ovarien auch histologisch untersucht und konnten einen Befund erheben, den Abb. 1 wiedergibt. Es handelt sich dabei um Ovarialschnitte von vier Einzelfällen aus jeder der Versuchsserien a—d (s. Tabelle 1), die in gleichstarker Vergrößerung wiedergegeben sind. Die betreffenden Ovargewichte sind in der Legende angeführt. Die Übersichtsaufnahmen lassen bei b und d keine Besonderheiten erkennen. Dagegen zeigt die Aufnahme c, wie es unter der Einwirkung des Prolans zur Ausbildung von vielen Corpora lutea gekommen ist. Das gleiche trifft im Falle a (Östradiolbenzoat + Prolan) zu, jedoch ist das Ausmaß der Luteinisierung der Follikel beträchtlich größer als bei c.

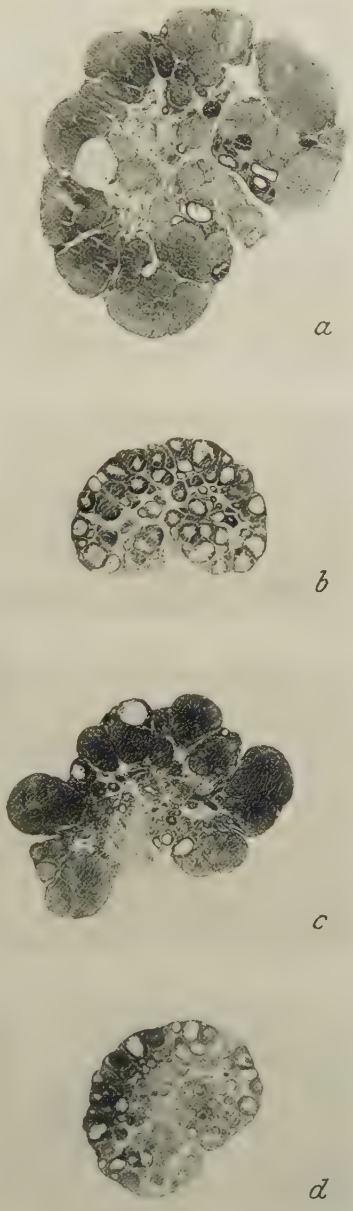


Abb. 1. Ovarien nach Behandlung mit: a) Östradiolbenzoat-Prolan (86 mg), b) Östradiolbenzoat — physiologische Na Cl-Lösung (15 mg), c) Sesamöl-Prolan (40 mg), d) Sesamöl—physiologische Na Cl-Lösung (16 mg).

Tabelle 1. Der Collip-Effekt mit Östradiolbenzoat.

a	b	c	d
Östradiolbenzoat-Prolan	Östradiolbenzoat-NaCl	Sesamöl-Prolan	Sesamöl-NaCl
Durchschnittliche Ovargewichte, mg pro Tier			
83,0	17,8	47,5	13,4

b) Versuche mit Dioxydiäthylstilben-Dipropionat.

Die Dosis-Wirkungsdiagramme.

Die in diesem Abschnitt geschilderten Versuche beschäftigen sich mit der Frage, ob das Follikelhormon beim Collip-Effekt durch den künstlichen Brunststoff Dioxydiäthylstilben-Dipropionat (fernerhin kurz als Stilben B bezeichnet) ersetzt werden kann. Nachdem wir uns in einigen Vorversuchen davon überzeugt hatten, daß dies zutraf, haben wir anschließend die Collipsche Reaktion mit Stilben B noch genauer verfolgt. Wir beschreiben als erstes Versuche, deren Ziel die Aufnahme von Prolan-Dosis-Wirkungsdiagrammen für drei Fälle mit verschieden starker Stilben B-Vorbehandlung der Versuchstiere war. Im einzelnen gestalteten sich diese Versuche folgendermaßen:

Versuch 1 (März 1939). 104 infantile Rattenweibchen im Gewicht von 35—40 g erhielten 7 Tage lang täglich 0,01 mg Stilben B in 0,2 ccm Sesamöl gelöst subcutan injiziert. Nach dieser Vorbehandlung teilten wir die Tiere in 13 Gruppen zu je 8 ein, wovon die erste Gruppe mit physiologischer Kochsalzlösung, die 12 übrigen Gruppen mit steigenden Prolandosen (1—2048 γ) weiterbehandelt wurden. Das Injektionsschema war mit dem auf S. 588 genannten identisch. Am 13. Versuchstag — den Tag der ersten Stilbeninjektion als ersten Tag gerechnet — wurde der Versuch durch Tötung der Tiere, Präparation und Wägung der Ovarien beendet.

Parallel hierzu lief eine Versuchsserie mit weiteren 104 Tieren, die kein Stilben B, sondern 7 Tage lang täglich nur 0,2 ccm Sesamöl subcutan injiziert bekamen.

Versuch 2 (Mai 1939) und Versuch 3 (April 1939) mit je 104 Ratten waren ganz entsprechend angelegt. Die Stilben B-Tagesdosis pro Tier betrug beim Versuch 2 0,1, beim Versuch 3 1 mg.

Auch hier wurden neben den Stilben B-Versuchen Kontrollversuche mit dem reinen Lösungsmittel (Sesamöl) durchgeführt, wozu wiederum 2mal 104 Tiere zum Einsatz kamen.

Als Prolan verwendeten wir ein stark gereinigtes, dialysiertes Produkt, von dem 2 γ 1 RE entsprachen. — Stilben B ist unter der Bezeichnung Cyren B in Öl gelöst im Handel *. Wir gingen von der kristallisierten Reinsubstanz (F.P. 105°) aus und stellten die für unsere Versuche geeigneten öligen Lösungen eigens her.

Diese Versuche führten zu den in Tabelle 2 zusammengefaßten Ergebnissen. Die dort angegebenen mittleren Abweichungen der Mittelwerte wurden, wie üblich, nach der Formel $\varepsilon = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n(n-1)}}$ [s. bei Burn (2)] berechnet. Wie oben schon gesagt, betrug n in unseren Versuchen 8.

* Herstellerfirma „Bayer" I. G. Farbenindustrie A.-G., Leverkusen a. Rh.

Wir haben an Hand von Tabelle 2 nach bestem Augenmaß die Dosis-Wirkungsdiagramme angelegt. Auf der logarithmisch unterteilten Abszisse sind die Prolandosen, auf der linear unterteilten Ordinate die Ovargewichte abgetragen. Abb. 2 (Diagramm 1) bezieht sich auf die Sesamöl-Kontrollversuche, Abb. 3 (Diagramm 2) auf die Stilben B-Versuche.

Bei den nur mit Sesamöl vorbehandelten Ratten verläuft der Anstieg der Ovargewichte bei zunehmender Prolandosis fast linear. Im Verhältnis zu dem starken Anwachsen der Prolandosis ist die Ovargewichtssteigerung jedoch als gering anzusehen. So wurden in unseren Versuchen selbst mit 2048 γ (entsprechend 1024 RE) Prolan nur etwa 2—4 mal so schwere Ovarien erzielt wie mit 1 γ Prolan.

Ganz andere Verhältnisse bieten die Versuche mit den Stilben B vorbehandelten Ratten. Hier haben die Dosis-Wirkungsdiagramme einen S-förmigen Verlauf. Im Bereich der niedrigen Dosen bis etwa 32 γ (entsprechend

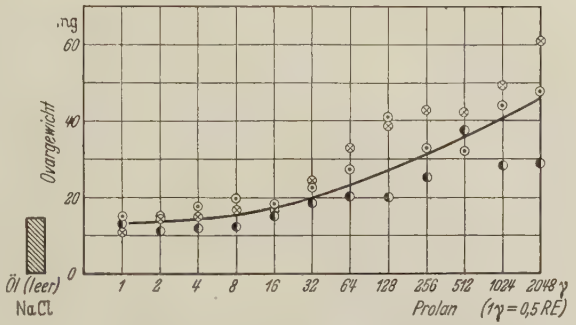


Abb. 2 (Diagramm 1). Prolan Dosis-Wirkungsdiagramm. Tiere nicht mit Stilben B vorbehandelt.

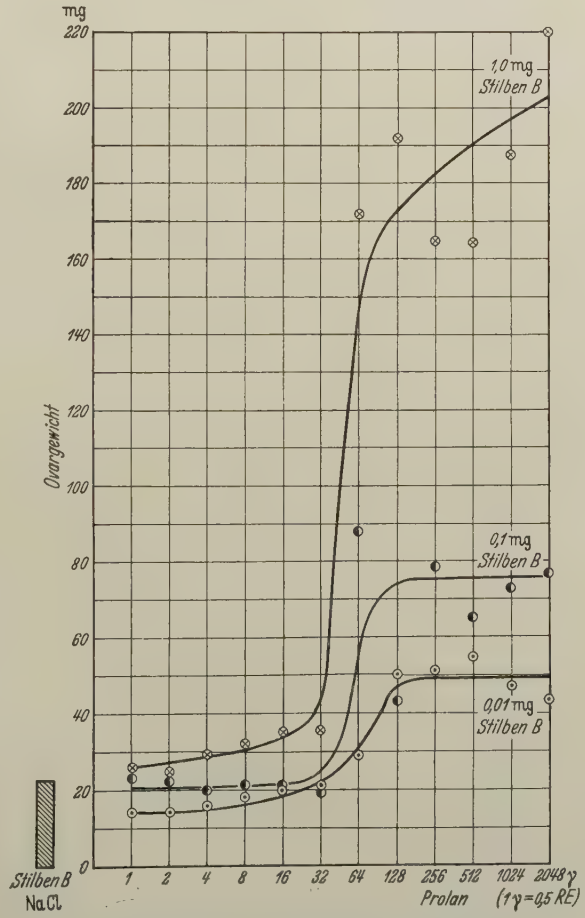


Abb. 3 (Diagramm 2). Prolan Dosis-Wirkungsdiagramm. Tiere mit 0,01, 0,1 und 1,0 mg Stilben B vorbehandelt.

Tabelle 2. Der Collip-Effekt mit Stilben B.

Prolan γ	Vorbehandlung mit: Stilben B, Versuch 1 ($7 \times 0{,}01$ mg)	Stilben B, Versuch 2 ($7 \times 0{,}1$ mg)	Stilben B, Versuch 3 (7×1.0 mg)	Sesamöl, Kontrolle zu 1	Sesamöl, Kontrolle zu 2	Sesamöl, Kontrolle zu 3
	Mittleres Gewicht beider Ovarien zusammen und mittlere Abweichung, mg pro Tag					
0	16,4 ± 1,2	23,3 ± 1,5	28,0 ± 2,6	12,9 ± 0,7	15,5 ± 2,3	15,0 ± 1,2
1	13,9 ± 1,3	23,1 ± 3,0	25,7 ± 2,1	14,8 ± 2,1	13,6 ± 1,6	11,1 ± 1,2
2	13,8 ± 1,6	22,0 ± 2,5	23,9 ± 1,9	14,5 ± 2,3	11,1 ± 0,7	14,8 ± 1,0
4	16,0 ± 1,8	19,4 ± 1,1	29,0 ± 1,6	17,5 ± 2,2	11,7 ± 1,5	15,2 ± 1,9
8	18,2 ± 1,6	21,0 ± 1,5	31,7 ± 2,5	19,8 ± 1,5	12,5 ± 0,8	16,5 ± 1,2
16	19,5 ± 2,0	20,6 ± 1,9	34,5 ± 3,3	18,6 ± 1,4	15,3 ± 1,0	17,0 ± 1,3
32	21,0 ± 1,1	19,1 ± 1,5	35,7 ± 3,1	22,8 ± 1,8	18,8 ± 1,7	24,1 ± 1,7
64	28,8 ± 2,9	87,9 ± 7,1	171,8 ± 27,4	27,5 ± 1,1	20,5 ± 1,6	33,0 ± 2,0
128	49,8 ± 5,1	43,1 ± 7,1	192,1 ± 16,8	41,0 ± 4,0	20,0 ± 2,1	39,6 ± 3,3
256	51,3 ± 5,0	78,6 ± 4,6	165,1 ± 20,4	32,8 ± 3,0	25,2 ± 2,9	42,6 ± 4,2
512	54,9 ± 4,4	65,2 ± 5,6	164,6 ± 8,9	31,9 ± 2,0	37,4 ± 5,2	42,2 ± 3,2
1024	47,0 ± 1,7	73,1 ± 12,0	187,7 ± 16,6	44,1 ± 4,1	28,3 ± 1,9	49,5 ± 3,9
2048	42,9 ± 2,2	76,5 ± 6,6	220,2 ± 16,0	47,8 ± 2,2	28,9 ± 2,6	60,9 ± 5,4

16 RE) des von uns verwendeten Prolans reagierten auch die Ovarien der Stilben B-Tiere — einerlei, welches die Dosierung des künstlichen Brunststoffes war — nur mit einer wenig ausgeprägten Gewichtszunahme; die Wirkungskurve zeigt einen ganz flachen Verlauf. Dann folgt aber ein mittlerer Dosenbereich, der sich etwa von 32—128 γ Prolan (entsprechend 16—64 RE) ausdehnt, bei dem der Collip-Effekt bei allen drei angewandten Stilben B-Dosierungen fast in seiner maximalen Stärke hervortritt. In diesem mittleren Bereich steigen m. a. W. die Wirkungskurven steil an*. Bei Dosen über 128 γ verlaufen die Kurven dann wieder flacher. Aus Diagramm 2 erkennt man auch die Abhängigkeit des Collip-Effektes von der Stilben B-Dosierung. Je höhere Stilben B-Dosen vor den Prolaninjektionen gegeben wurden, um so stärker trat der Effekt in Erscheinung.

Die durch die kombinierte Stilben B-Prolanbehandlung bedingte starke Gewichtsvermehrung der Ovarien beruht ebenso wie das bei den Ovarien der mit Östradiolbenzoat-Prolan behandelten Ratten der Fall war (s. unter a) vor allem auf der Ausbildung zahlreicher Corpora lutea. Auch die Hyperämie hat wohl z. T. zur Gewichtssteigerung beigetragen. Diese Hyperämie der Ovarien war sehr ausgeprägt. Bei der Sektion zeigten sich die Ovarien von dunkelroter Farbe. Auf die Wiedergabe von Photographien sei hier verzichtet, da wir unserer vorläufigen Mitteilung (11) über diese Versuche entsprechende Abbildungen beigefügt

* Wir sind zur Zeit damit beschäftigt, auf diesem Teil des Wirkungsablaufes eine neue Methode zur Auswertung von Prolan aufzubauen, bei der an Stelle des Vaginalabstriches, dessen Bewertung starken subjektiven Schwankungen unterworfen ist, die Ermittlung der Ovargewichte tritt.

haben. Damals wurde auch schon hervorgehoben, daß die gebildeten Corpora lutea funktionstüchtig gewesen sein mußten, da sich im histologischen Bild eine teilweise sehr gute Durchblutung erkennen ließ und da die infolge der Stilbenbehandlung „positiven" Vaginalabstriche (Schollen) nach der Prolanbehandlung prompt negativ wurden, was dafür spricht, daß Gelbkörperhormon gebildet worden war.

c) Der Einfluß der Stilben-Vorbehandlungsdauer.

Bei den voranstehend geschilderten Versuchen wurde die Stilben B-Vorbehandlung immer auf 7 Tage ausgedehnt. Wir haben nun weiter untersucht, welchen Einfluß die Vorbehandlungsdauer auf den Ausfall des Collip-Effektes hat. Die dieser Frage gewidmeten Versuche und ihre Resultate sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3. Einfluß der Stilben B-Vorbehandlungsdauer.

1	2	3	4	5	6	7
Serie	Tage Sesamöl (leer)	Tage Stilben B in Sesamöl 1 mg pro Tag	Am 12. Tag gegeben	Ovargewicht am 17. Tag, mg	Gewichtssteigerung auf das . . . fache	Signifikante Differenz S
1	0	11	Prolan	201,0 ± 17,0	14,0	
2	3	8	100 γ	199,0 ± 9,7	13,3	
3	6	5	in	127,5 ± 10,2	8,9	
4	8	3	48 Stunden	112,5 ± 9,4	7,8	5,8
5	10	1	6 Dosen	71,2 ± 5,4	4,9	2,6
6	11	0		55,1 ± 2,9	3,8	
7	11	0	physiol. NaCl-Lsg.	14,4 ± 0,8	1,0	

Es wurden 7 Serien von infantilen Ratten in Versuch genommen. Jede Serie bestand aus 10 Tieren. Wie aus Stab 3 und 4 der Tabelle 3 hervorgeht, erhielt die erste Serie von Tieren 11 Tage lang täglich 1 mg Stilben B, und zwar in 0,2 ccm. Sesamöl subcutan injiziert, gleich anschließend dann Prolan. Die zweite Tierserie erhielt nur 8 Tage lang Stilben B, vorher aber 3 Tage Sesamöl (leer), so daß auch diese Tiere insgesamt 11 Tage lang behandelt wurden. Dasselbe galt für die übrigen Tierserien, nur lagen vor den Stilben B-Injektionen zunehmend mehr Tage, an denen die Tiere nur Sesamöl bekamen, bis schließlich den Tieren der 6. Serie 11 Tage lang lediglich Sesamöl verabreicht wurde. Eine 7. Serie von Ratten bekam ebenfalls 11 Tage lang Sesamöl, dann aber anschließend physiologische Kochsalzlösung anstatt Prolan, das allen Tieren der voranstehenden Serien nach der auf S. 588 geschilderten Technik gespritzt wurde.

Bei diesen Versuchen waren innerhalb des gewählten Zeitraumes von 11 Tagen die Ovargewichte um so höher, je länger Stilben B gegeben wurde. Eine Vorbehandlungsdauer von 5 Tagen reichte nicht aus, um den Effekt maximal hervortreten zu lassen. Andererseits bot eine Behandlung über 11 Tage hinaus keine wesentlichen Vorteile in quantitativer Hinsicht. Bemerkenswert ist, daß schon eine einzige Stilbeninjektion am Tage vor der Prolangabe einen deutlichen Collip-Effekt ergab. Der gefundene

Unterschied im Gewicht der Ovarien hält auch einer rechnerischen Kritik stand, da die Differenzen nach der Formel $S = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}$ [s. Burn (2)] signifikant sind. Das gleiche trifft für die Differenz der Ergebnisse der 6. und der 4. (und erst recht der 3., 2., 1.) Versuchsserien zu. In der Regel werden die Unterschiede zwischen zwei Meßresultaten als signifikant angesehen, wenn S mindestens 2 ist.

d) Die Wirkung kleinster Stilben B-Dosen.

Aus den weiter oben stehenden Versuchen hatte sich ergeben, daß nach der Vorbehandlung mit $7 \times 0{,}01$ mg ($= 7 \times 10\,\gamma$) Stilben B ein zwar gerade noch erkennbarer, aber immerhin doch nur als schwach zu bezeichnender Collip-Effekt hervortrat. Danach darf man wohl annehmen, daß sich bei weiterer Herabsetzung der Stilben B-Dosen der Effekt nicht mehr zeigt. Aber es taucht dann die Frage auf, ob man durch Vorbehandlung mit kleinsten Dosen von Stilben B und anschließender Prolanbehandlung wenigstens eine Steigerung im Prozentsatz der Tiere mit mikroskopisch nachweisbaren Corpora lutea erzielen kann. Wir haben zwei Versuche (am 16. Oktober und 2. November 1939) mit je 40 infantilen Ratten nach dieser Richtung hin unternommen.

Eine Gruppe von 40 Tieren erhielt 7 Tage lang täglich 0,2 γ Stilben B in 0,2 ccm Sesamöl gelöst subcutan injiziert, während eine 2. Gruppe von ebenfalls 40 Tieren zur Kontrolle die gleiche Menge Sesamöl erhielt. Nach Ablauf dieser Vorbehandlungszeit wurde jede Tiergruppe unterteilt; die eine Hälfte bekam vom 8. Tage ab Prolan, die andere Hälfte physiologische Kochsalzlösung. Das Injektionsschema war dabei das bei uns übliche und auf S. 588 geschilderte. Etwa 120 Stunden nach Beginn der Prolan- bzw. Kochsalzinjektionen wurden die Tiere getötet und die Ovarien zur histologischen Untersuchung herausgenommen. Das für diese Versuche angewandte Prolan war im Vorversuch genauer auf seine luteinisierende Wirksamkeit geprüft worden. Wir fanden, daß 120 γ dieses Produktes bei etwa 50% der eingesetzten infantilen Ratten Corpora lutea erzeugt. Von diesem Prolan erhielten die betreffenden Versuchstiere 167 γ als Gesamtdosis.

Wir haben die Ergebnisse dieser Versuche in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4. Wirkung kleinster Stilben B-Dosen auf die Corpus luteum-Bildung.

	Stilben B in Sesamöl		Sesamöl, leer	
	dann Prolan (20 Tiere)	dann NaCl (0 Tiere)	dann Prolan (20 Tiere)	dann NaCl (20 Tiere)
% Tiere mit Corp. lut.	55 %	5 %	80 %	0 %

Die Versuche haben ergeben, daß von den mit Stilben B behandelten Ratten im Vergleich zu den mit Sesamöl vorbehandelten Tieren ein etwas geringerer Prozentsatz Corpus luteum-Bildung aufwies, so daß wir den Eindruck haben, daß kleinste Dosen von Stilben B die durch Prolan an-

geregte Corpus luteum-Bildung nicht fördern. Eine hemmende Wirkung kleinster Stilben B-Dosen möchten wir aus unseren Versuchen wegen der geringen Tierzahl allerdings auch nicht annehmen. Die hier angewandte Stilben B-Tagesdosis von 0,2 γ liegt im Bereich der östrogenen Schwellenwerte für diesen Stoff, die ja je nach der Art der Zuführung voneinander verschieden sind. Nach Zufuhr der Gesamtmenge von $7 \times 0{,}2 = 1{,}4\,\gamma$ boten die Vaginalabstriche aller Stilben B-Tiere ein reines Schollenstadium. Demgegenüber waren die Abstriche aller Sesamöl-Kontrolltiere auch am 8. Tag unmittelbar vor der Prolangabe rein negativ. Die Tabelle 4 zeigt auch, was schon bekannt ist, daß Stilben B (ebenso wie Follikelhormon) allein bei einer kleineren Anzahl von Tieren (hier bei einem von 20 Tieren) eine Corpus luteum-Bildung bewirken kann.

II. Der Collip-Effekt bei hypophysektomierten Ratten.

Bei der Deutung des Collip-Effektes mußte vor allem an zwei Möglichkeiten gedacht werden: Einmal konnte es sein, daß das Follikelhormon bzw. das Stilben B die Reaktionsbereitschaft des Ovars auf Prolan direkt steigert, z. B. durch Hyperämisierung. Fernerhin war es möglich, daß die Hypophyse des Tieres an der Reaktion teilnimmt, etwa derart, daß unter dem Einfluß der Brunststoffe vom Hypophysenvorderlappen ein Wirkstoff abgegeben wird, der die Prolanwirkung wesentlich verstärkt.

Um nun die Rolle der Hypophyse aufzuklären, haben wir geprüft, ob und wie weit es gelingt, den Collip-Effekt an hypophysenlosen Ratten zu demonstrieren. Mit diesen Versuchen konnte gleichzeitig auch darüber entschieden werden, ob die erstgenannte Deutungsmöglichkeit zutrifft oder ausscheidet.

Da wir bisher keine operativen Erfahrungen über die Hypophysektomie bei Ratten besaßen und die erfolgreiche Durchführung dieser Operation an infantilen Tieren keine leichte Aufgabe ist, so haben wir bei unseren Versuchen ausschließlich mit erwachsenen, 140—250 g schweren Rattenweibchen gearbeitet, nachdem sich in Vorversuchen gezeigt hat, daß der Collip-Effekt mit erwachsenen Tieren ebenso gelingt wie mit infantilen, was weiter unten auch durch Zahlen belegt wird.

Die Hypophysektomie wurde nach der von Freud (8) beschriebenen Technik vorgenommen. Von einer größeren Zahl von laufend operierten Tieren gelang es 74 soweit am Leben zu erhalten, daß mit diesen die geplanten Versuche durchgeführt werden konnten. Ob die Hypophysektomie bei den Versuchstieren wirklich völlig geglückt war, wurde nach Beendigung des Versuchs durch Inspektion der Schädelbasis der getöteten Tiere sowie durch histologische Untersuchung der herausgeschnittenen, fixierten, entkalkten und in Serienschnitte zerlegten Hypophysengegend genau überprüft. Zur Färbung der Schnitte verwandten wir Hämatoxylin-Eosin. Durch diese Auslese haben sich 3 Gruppen von Tieren ergeben. Gruppe 1: Tiere mit vollständig erhaltener Hypophyse (13); Gruppe 2: Tiere mit nur mikroskopisch erkennbaren Hypophysenresten (42); Gruppe 3: völlig hypophysenlose Tiere (19). Die beigefügten 4 Mikrophotogramme (s. Abb. 4) von den Hypophysen-

gegenden vier verschiedener operierter Ratten zeigen der Reihe nach einen Fall der Gruppe 1, einen Fall der Gruppe 3 und zwei Fälle der Gruppe 2.

Bei der Auswertung der Versuchsresultate hat es sich gezeigt, daß nicht nur die Tiere der Gruppe 3, also die einwandfrei hypophysektomierten Tiere von Bedeutung waren. Wichtige Aufschlüsse haben auch die beiden anderen Tiergruppen geliefert. Wir geben daher die Ergebnisse von allen 74 operierten Tieren, jedoch nach den 3 genannten Gesichtspunkten getrennt wieder. Die Tiere der Gruppe 1 werden fernerhin als „scheinoperierte Tiere" bezeichnet.

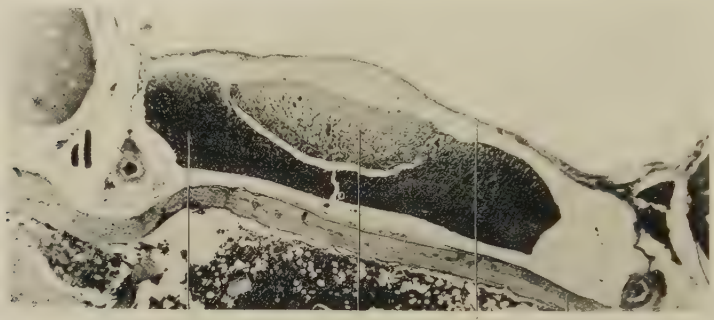


Abb. 4a.

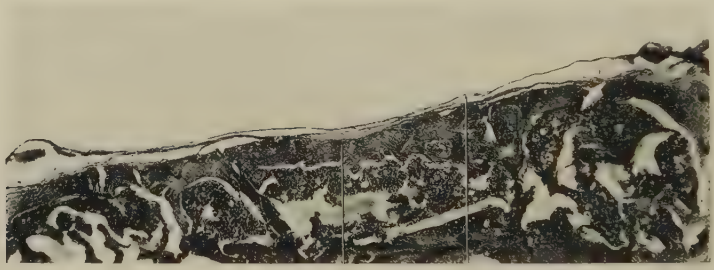


Abb. 4b.

Die Ratten wurden frühestens 6 und spätestens 46 Tage nach der Operation in Versuch genommen. Eine Ausnahme machte nur ein scheinoperiertes Tier, das erst 88 Tage nach der Operation verwendet wurde. Die überwiegende Mehrzahl der Ratten (68 von 74) wurde jedoch in der zweiten und dritten Woche eingesetzt. Bis auf 4 Ratten nahmen alle Tiere während der Wartezeit an Gewicht ab. Die durchschnittliche Gewichtsabnahme betrug bei den Tieren der Gruppe 1: — 5,5%; der Gruppe 2: — 11,1%; der Gruppe 3: — 12,1%. Die wenigen Tiere mit geringer Gewichtszunahme verteilen sich auf alle drei Gruppen.

Mit den 74 operierten Ratten wurden die drei folgenden Versuchsserien durchgeführt: 42 Tiere erhielten subcutan Stilben B, gelöst in Sesamöl, 14 nur Sesamöl, 18 Tiere blieben ohne Vorbehandlung. Die Stilben B-Tagesdosis betrug 1 mg in 0,2 ccm Öl. Die Vorbehandlung erstreckte sich auf 7 Tage. Am 8.—10. Tag wurde dann Prolan in der auf S. 588 geschilderten Weise verabreicht. Jedes Tier

erhielt die Gesamtdosis von 300 RE Prolan. Die Tötung der Tiere erfolgte am 6. Tage nach Beginn der Prolan- bzw. am 13. Tage nach Beginn der Stilben B- oder Ölinjektionen.

Parallel zu den obengenannten 3 Versuchsserien mit operierten Ratten lief je eine Versuchsreihe mit 33; 17 bzw. 20 gleichschweren normalen, nicht operierten Tieren; diese erhielten also vor der Verabreichung von 300 RE Prolan gleichfalls

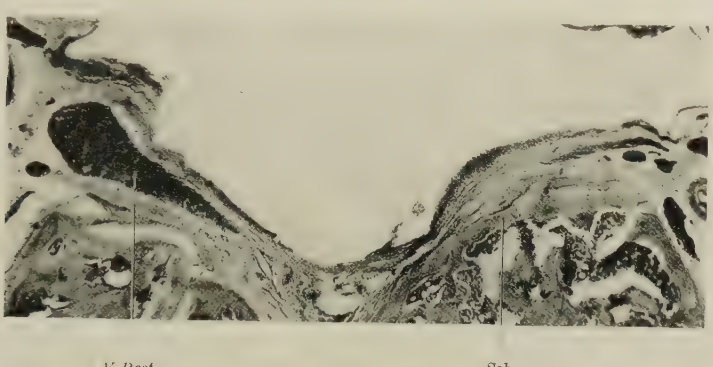


Abb. 4c.

Abb. 4d.

Abb. 4a—d. Hypophysengegenden verschiedener Versuchstiere: a) Scheinoperiertes Tier, b) Vollständig hypophysenloses Tier, c) und d) Tiere mit mehr oder weniger großen Hypophysenresten, *V* = Hypophysenvorderlappen, *H* = Hypophysenhinterlappen, *M. t.* = Membran tectoria, *Sch.* = Schädelbasis.

teils 1 mg Stilben B, teils Sesamöl, leer, während ein dritter Teil wieder unvorbehandelt blieb.

Wir geben diese Versuchsresultate in den Tabellen 5—7 wieder In Tabelle 8 sind die Mittelwerte der Ovargewichte sowie zum Teil die mittleren Abweichungen dieser Mittelwerte zum besseren Vergleich einander gegenübergestellt. In den Fällen, wo weniger als fünf Einzelresultate vorlagen, ist von einer Berechnung der mittleren Abweichungen der Mittelwerte abgesehen worden.

Es läßt sich aus Tabelle 8 nun folgendes entnehmen:

1. In allen drei Versuchsserien A, B und C zeigte sich, daß die Ovargewichte bei normalen und scheinoperierten Tieren beträchtlich höher lagen als bei den Tieren mit Hypophysenresten und den vollständig hypophysenlosen Tieren. Nur die Tiere der Serie C_3 machten eine Ausnahme, insofern hier kein Unterschied der mittleren Ovargewichte gegen die entsprechenden Werte der Versuchsserien C_1 und C_2 auftrat. Hierzu muß aber gesagt werden, daß die Tiere mit Hypophysenresten deswegen keine

Tabelle 5. Tiere mit Stilben B-Vorbehandlung; dann Prolan. August und November 1939; Juli bis Oktober 1940.

	Gewicht beider Ovarien zusammen, mg pro Tier			
	Normale Tiere (117 — 205 g)*	Scheinoperierte Tiere (113 — 186 g)	Tiere mit Hypophysenresten (94 — 204 g)	Vollständig hypophysenlose Tiere (104—217 g)
1	224	195	122	128
2	161	234	124	85
3	180	149	125	131
4	220	162	216	123
5	150	235	149	107
6	220	164	68	118
7	178	73	108	
8	163		109	
9	90		92	
10	153		44	
11	159		60	
12	160		62	
13	151		203	
14	104		18	
15	119		85	
16	167		76	
17	104		130	
18	211		141	
19	254		205	
20	172		65	
21	196		133	
22	175		154	
23	201		167	
24	236		148	
25	197		83	
26	166		110	
27	261		110	
28	284		128	
29	213		146	
30	252			
31	198			
32	244			
33	240			
Mittelwerte				
	188 ± 8	173 ± 21	117 ± 9	115 ± 7

* Körpergewichte am Ende des Versuchs, kurz vor der Tötung der Tiere ermittelt.

Tabelle 6. Tiere mit Sesamölvorbehandlung; dann Prolan. November 1939; Juli und September 1940.

	Gewicht beider Ovarien zusammen, mg pro Tier			
	Normale Tiere (154—204 g)	Scheinoperierte Tiere (158 g)	Tiere mit Hypophysenresten (142—206 g)	Vollständig hypophysenlose Tiere (152—181 g)
1	84	139	38	58
2	57		58	40
3	84		51	48
4	82		51	
5	84		45	
6	54		44	
7	54		91	
8	44		28	
9	102		48	
10	100		50	
11	121			
12	158			
13	113			
14	180			
15	100			
16	160			
17	156			
		Mittelwerte		
	102 ± 10		50 ± 5	49

Tabelle 7. Tiere ohne Vorbehandlung; nur Prolan. Juli—August 1939.

	Gewicht beider Ovarien zusammen, mg pro Tier			
	Normale Tiere (123—238 g)	Scheinoperierte Tiere (162—240 g)	Tiere mit Hypophysenresten (183—222 g)	Vollständig hypophysenlose Tiere (136—185 g)
1	67	55	89	22
2	92	75	53	26
3	97	82	114	46
4	74	95		27
5	92	89		24
6	95			64
7	85			74
8	78			36
9	90			71
10	70			46
11	92			
12	159			
13	145			
14	132			
15	84			
16	102			
17	112			
18	80			
19	86			
20	143			
		Mittelwerte		
	99 ± 6	79 ± 7	85	44 ± 6

Tabelle 8. Mittlere Ovargewichte und mittlere Abweichungen, mg. (Zusammenfassung der Ergebnisse.)

Normale Tiere	Scheinoperierte Tiere	Tiere mit Hypophysenresten	Vollständig hypophysenlose Tiere
A. Stilben B Vorbehandlung			
1. 188 ± 8	2. 173 ± 21	3. 117 ± 9	4. 115 ± 7
B. Sesamölvorbehandlung			
1. 102 ± 10	2. (139)	3. 50 ± 5	4. 49
C. Ohne Vorbehandlung			
1. 99 ± 9	2. 79 ± 7	3. 85	4. 44 ± 6

eindeutigen Ergebnisse bringen können, weil nicht entschieden werden kann, ob z. B. ein Hypophysenrest, und sei er auch noch so klein, als funktionslos angesehen werden kann oder nicht.

Die genannten Unterschiede zwischen den Ovargewichten halten auch einer rechnerischen Kritik stand. Nach der auf S. 594 schon erwähnten Formel zur Ermittlung der signifikanten Differenz (S) ergibt sich für die Serie A: 3 gegen 1, $S = 5{,}9$; 4 gegen 1, $S = 6{,}9$. Für die Serie B gilt: 3 gegen 1, $S = 4{,}7$. Für die Serie C gilt: 4 gegen 1, $S = 6{,}5$.

Nach diesen Zahlen darf also gefolgert werden, daß das Prolan in allen Versuchsserien bei hypophysenlosen Ratten weit weniger wirkt als bei normalen Tieren mit intakter Hypophyse, ein Schluß, der mit den heute ziemlich allgemein vertretenen Anschauungen über die Wirkung des Prolans in Einklang steht.

Vergleicht man nun die Resultate der verschiedenen Versuchsserien untereinander, so ergibt sich:

2. Die Sesamöltiere (Serie B) verhalten sich nicht anders als die Tiere ohne jegliche Vorbehandlung. Die mittleren Ovargewichte bei normalen (B_1, C_1) und hypophysenlosen (B_4, C_4) Ratten sind fast gleichgroß. Auf den Wert B_2 kann als Einzelwert kein großes Gewicht gelegt werden; immerhin fügt es sich in den Rahmen ein, den man bei einem scheinoperierten Tier (intakte Hypophyse) anlegen muß.

3. Die für unsere auf S. 595 entwickelte Fragestellung wichtigsten Schlußfolgerungen ergeben sich, wenn man die Ergebnisse der Versuchsserie A mit denen der Serien B und C vergleicht.

Man erkennt, daß auch bei normalen, erwachsenen Ratten ebenso wie bei infantilen Ratten der Collip-Effekt auftrat. Die Unterschiede in den mittleren Ovargewichten sind einwandfrei signifikant. Für A_1 gegen B_1 ist $S = 6{,}7$ und für A_1 gegen C_1 beträgt $S = 8{,}9$. Ähnliche Verhältnisse wurden bei den scheinoperierten Tieren angetroffen. Auch bei ihnen zeigte sich der Collip-Effekt, was nach dem eben Gesagten verständlich ist, da die scheinoperierten Tiere ja ihre Hypophysen noch be-

saßen. Der Unterschied zwischen A_2 und C_2 (B_2 scheidet als Einzelbeobachtung aus) ist signifikant ($S = 4{,}3$).

Der Collip-Effekt konnte aber auch bei den vollständig hypophysenlosen Ratten gefunden werden. Bei den mit Stilben B vorbehandelten Tieren betrug das mittlere Ovargewicht 115 mg (A_4), bei den nur mit Öl bzw. überhaupt nicht vorbehandelten Tieren nur 49 (B_4) bzw. 44 (C_4) mg. Der Unterschied zwischen A_4 und C_4 ist signifikant, S beträgt 7,7. Auch die zwischen A_4 und B_4 vorhandene Differenz kann mit großer Wahrscheinlichkeit als signifikant angesehen werden. Da der B_4-Wert das Mittel von nur drei Einzelbeobachtungen ist, so haben wir es hier unterlassen, die mittlere Abweichung des Mittelwertes sowie S zu berechnen.

Dieses Ergebnis wird gestützt durch die Beobachtungen an den Tieren mit Hypophysenresten. Auch hier trat zwischen den mit Stilben B (A_3) und den nur mit Sesamöl (B_3) vorbehandelten Ratten der gleiche Gewichtsunterschied hervor, der wiederum deutlich signifikant ist ($S = 6{,}5$). Umgekehrt dürfen die mit diesen Tieren erzielten Ergebnisse in dem genannten Sinne verwertet werden, weil sie sich ganz mit den an vollständig hypophysektomierten Ratten gewonnenen Resultaten decken.

4. Nach unseren Versuchen gelingt also der Collip-Effekt sowohl mit normalen als auch mit hypophysenlosen Ratten. In dieser Hinsicht stimmen unsere Befunde mit denen von Williams (22), Pencharz (17) und Evans (19) überein. Worauf aber diese Autoren infolge fehlender Parallelversuche mit normalen Ratten nicht hinweisen konnten, ist die Tatsache, daß durch die Stilben B-Vorbehandlung der Unterschied in der Reaktionsstärke der Ovarien normaler bzw. hypophysektomierter, nicht vorbehandelter Ratten auf Prolan hin keineswegs verschwindet. Es gilt für Stilben B vorbehandelte ebenso wie für die nicht mit dem künstlichen Brunststoff vorbehandelten Tiere, daß Prolan bei hypophysektomierten Tieren eine geringere Ovariengewichtsreaktion auslöst als bei normalen Tieren, worauf unter 1. schon hingewiesen wurde.

Die auf S. 595 aufgeworfenen Fragen können nun in folgender Weise beantwortet werden: An der durch Prolan bewirkten Ovariengewichtsreaktion ist die Hypophyse der Versuchstiere in jedem Falle beteiligt. Für die Steigerung des Reaktionsgrades durch Vorbehandlung mit Brunststoff, d. h. zur Auslösung des Collip-Effektes, ist jedoch die Anwesenheit der Hypophyse nicht erforderlich. Hieraus darf dann aber weiterhin der Schluß gezogen werden, daß der Brunststoff bei der Collipschen Reaktion seinen direkten Angriffspunkt am Ovar hat; denn dafür, daß noch andere innersekretorische Organe, außer der Hypophyse am Ablauf der Ovargewichtsreaktion nach Follikelhormon bzw. Stilben B- und Prolangabe beteiligt sind, sind einstweilen keine Anhaltspunkte gegeben. Der Collip-Effekt erklärt sich wahrscheinlich aus der hyperämisierenden Wirkung von natürlichem und künstlichem Brunststoff.

Zusammenfassung.

1. Es wurde zunächst die Angabe der Literatur bestätigt, daß eine kombinierte Follikelhormon-(Östradiolbenzoat-) Prolanbehandlung bei infantilen Ratten zu wesentlich höheren Ovargewichten führt, als eine alleinige Prolanbehandlung. Diese Reaktion wird als Collip-Effekt bezeichnet. Die Gewichtsvermehrung war vor allem die Folge einer ausgedehnten Corpus luteum-Bildung.

2. Genau so wie Östradiolbenzoat wirkte der künstliche Brunststoff Dioxydiäthylstilben-Dipropionat (Stilben B); auch hiermit gelang der Collip-Effekt. Die Dosis-Wirkungsdiagramme für Prolan, aufgenommen mit infantilen Ratten, die 7 Tage lang täglich mit 0,01, 0,1 und 1 mg Stilben B vorbehandelt wurden, zeigten (im einfach logarithmischen Netz) einen *S*-förmigen Verlauf. Bei allen drei angewandten Stilben B-Dosen trat der Collip-Effekt nach Gabe bis zu 16 RE Prolan nicht oder kaum in Erscheinung. Im Bereich der Dosen von etwa 16—64 RE Prolan zeigte sich der Effekt fast in seiner maximalen Stärke, so daß bei weiterer Steigerung der Prolandosis bis zu 1024 RE die Resultate nur noch wenig übertroffen wurden. Entsprechende Kontrollversuche mit Ratten, die an Stelle von Stilben B nur das ölige Lösungsmittel erhielten, ergaben eine ziemlich flach verlaufende Dosis-Wirkungskurve. Es haben sich z. B. folgende Ovargewichte nach Verabreichung von 64 RE Prolan ergeben: Öltiere: etwa 25 mg; Stilben B-Tiere (geordnet nach steigenden Stilben B-Dosen): etwa 45, 75, 175 mg. Die Gewichtsvermehrung war auch hier wieder die Folge einer ausgedehnten Bildung von Corpora lutea.

Die Stärke des Effektes war bei konstanter Stilben B-Tagesdosis von 1 mg abhängig von der Dauer der Vorbehandlung. 5 Tage reichten nicht aus, um die maximale Wirkung zu erzielen. Andererseits bot eine Vorbehandlung über 11 Tage hinaus keine großen Vorteile. Schon eine einzige Stilben B-Gabe am Tage vor der Prolanbehandlung ließ den Collip-Effekt hervortreten.

3. Kleinste Stilben B-Dosen (7 Tage lang täglich 0,2 γ) förderten die durch Prolan bewirkte Corpus luteum-Bildung nicht. Der Prozentsatz von Tieren mit histologisch nachgewiesenen Corpora lutea war bei den Stilben B-Tieren nicht größer als bei den Öltieren.

4. Der Collip-Effekt ließ sich auch mit hypophysenlosen (erwachsenen) Ratten hervorrufen. Die Ovargewichte unbehandelter bzw. nur mit Öl vorbehandelter Tiere betrugen nach Verabreichung von 300 RE Prolan im Mittel 44 bzw. 49 mg. Demgegenüber lagen die Ovargewichte der Stilben B-Tiere bei 115 mg. Da entsprechende Versuche mit normalen (erwachsenen) Ratten immerhin noch höhere Ovargewichte ergaben (bei den Stilben B-Tieren 188 mg), so wurde gefolgert, daß an der durch Prolan bewirkten Ovargewichtsreaktion die Hypophyse des Versuchstieres zwar wesentlich beteiligt ist, daß aber für die Steigerung des

Reaktionsgrades durch Stilben B, d. h. zur Auslösung des Collip-Effektes die Anwesenheit der Hypophyse nicht erforderlich ist. Diese Tatsache macht die weitere Annahme wahrscheinlich, daß der Brunststoff beim Collip-Effekt seinen direkten Angriffspunkt am Ovar hat. Wahrscheinlich erklärt sich der Collip-Effekt aus der hyperämisierenden Wirkung der Brunststoffe.

Literatur.

1) Allen u. Heckel: Science **84**, Nr. 2172, S. 161 (1936). — 2) Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Springer, 1937. — 3) Collip: Internat. Clin. **4**, 51 (1932); Seyle Collip u. Thomson, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 1377 (1935). — 4) Dodds: Siehe bei Huf [12]. — 5) Donahue: Endocrinology **23**, 521 (1938). — 6) Fevold, Hisaw u. Greep: Amer. J. Physiol. **114**, 508 (1936). — 7) de Fremery: Handb. biol. Arbeitsmethode, Abt. V, Teil 3 B, 1493 (s. vor allem S. 1527) (1938). — 8) Freud: Ebenda S. 1441. — 9) Grein: Dissertation. Frauenklinik Frankfurt a. M. 1939: „Experimentelle Untersuchungen über die lutenisierende Wirkung von synthetischen Stoffen der Stilböstrolreihe in Verbindung mit Prolan". — 10) Hohlweg: Klin. Wschr. **13**, 92 (1934); **15**, 1833 (1936); Hohlweg u. Camorro, Ebenda **16**, 196 (1937). — 11) Huf: Ebenda **19**, 625 (1940). — 12) Huf: Ebenda **20**, 729 (1941). — 13) Huf: Die Arbeit erscheint in Kürze in „Medizin und Chemie", Bd. IV, herausgegeben von „Bayer", I. G.-Farbenindustrie A.-G., Leverkusen a. Rh. — 14) Klein: C. r. Soc. Biol. **130**, 929 (1939). — 15) Magath u. Rosenfeld: Klin. Wschr. **12**, 1288 (1933); Pflügers Arch. **233**, 311 (1934). — 16) Noble, The Lancet **235**, 192 (1938 II). — 17) Pencharz: Science **91**, Nr. 2371, S. 554 (1940). — 18) Robson: Quart. J. exper. Physiol. **28**, 49 (1938). — 19) Simpson, Evans, Fraenkel-Conrat u. Choh Hao Li: Endocrinology **28**, 37 (1941). — 20) Westman u. Jacobsohn: Acta obstetr. et gynaec. Scand. **17**, 1 (1937). — 21) Westman u. Jacobsohn: Ebenda **18**, 115 (1938). — 22) Williams: Nature **145**, Nr. 3671, S. 388 (1940). — 23) Wolfe: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **34**, 26 (1936).

Aus der Akademischen Kinderklinik Düsseldorf.
(Direktor: Prof. Dr. F. Goebel.)

Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf die Permeabilität der Blutgefäßwand für Wasser und Salze.

(Kurze Mitteilung.)

Von

Dr. med. habil. **Josef Ströder,**

Assistent der Klinik.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. November 1941.)

Seit längerer Zeit sind wir mit Untersuchungen über die Permeabilität von Zellen und Geweben bei diphtherischer Intoxikation beschäftigt. Über die Ergebnisse habe ich zum Teil auf der 115. und 116. Sitzung der Vereinigung Rheinisch-Westfälischer Kinderärzte berichtet. Eine ausführliche Mitteilung der gewählten Untersuchungsmethoden, der umfangreichen experimentellen Daten, die Bedeutung der Ergebnisse für die pathogenetischen Auffassungen über die diphtherische Intoxikation, die sich ergebenden Gesichtspunkte für die Therapie bringt eine ausführliche Arbeit des Verfassers, deren Veröffentlichung an anderer Stelle vorgesehen ist. Besonders wichtig war das Ergebnis einer abnormen Eiweißdurchlässigkeit weitausgedehnter Kapillarbezirke im Sinne der „serösen Entzündung" (Eppinger, Rössle). Dieses außerordentlich wichtige Ergebnis ließ es sehr reizvoll erscheinen, zu prüfen, ob und inwieweit möglicherweise ein vermehrter Übertritt von Wasser und Salzen bei diphtherischer Intoxikation zu beobachten ist.

Unser Vorgehen war ähnlich dem von G. Schneider, die unter Eppinger pharmakotherapeutische Untersuchungen bei seröser Entzündung vornahm: Das nach Krakow isolierte und durchströmte Kaninchenohr wird vor und nach der Durchströmung möglichst genau gewogen. Eine eventuelle Gewichtszunahme, die nach Abschluß des Versuchs gefunden wird, zeigt uns erhöhte Gefäßdurchlässigkeit für Durchströmungsflüssigkeit an.

Versuchsmethodik.

Wir wählten zu den Untersuchungen gleichaltrige, gleichschwere Kaninchen aus, die durch Nackenschlag getötet wurden. Die abgeschnittenen Ohren wurden 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Sodann wurde die art. auric. post. sorgfältig präpariert und das Ohr auf

zwei Dezimalen gewogen und dann nach Krakow-Pissemski (Glaskanüle in der Arterie. Verzicht auf Venenkanülen) durchströmt. Als Durchströmungsflüssigkeit wählten wir Normosallösung von Zimmertemperatur. Ein Ohr wurde 60 Minuten, das andere vom gleichen Tier stammende Ohr 120 Minuten durchströmt (gleicher Druck). Die abfließende Tropfenzahl Minute wurde bestimmt. Sofort anschließend an die Durchströmung wurde die Kanüle entfernt und das Ohrgewicht wieder bestimmt. Es wurden die Ohren von 13 gesunden und von 16 vor 48 Stunden mit einem Di-Toxin der Behringwerke, Marburg (Prof. Dr. Schmidt), vergifteten Tieren durchströmt. In jedem Falle wurde autoptisch auf Gesundheit bzw. Di.-Vergiftung der Tiere nachgesehen. Die Versuche wurden von Januar bis Juni 1941 ausgeführt.

Versuchsergebnisse.

Zur Aufarbeitung der Einzelbefunde bediente ich mich der biometrischen Methode Beckels. Bezüglich aller Einzelheiten verweise ich auf meine eingehende Mitteilung an anderer Stelle.

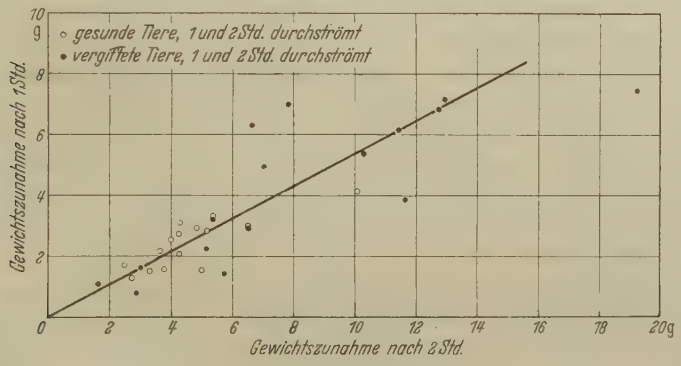


Abb. 1.

Hinsichtlich der Gewichtszunahme und der abfließenden Tropfenzahl 5 Minuten zeigt im allgemeinen jedes Gefäßpräparat sein eigenes Verhalten. Jedes Gefäßpräparat stellt sich in den ersten 15 Minuten ein, es paßt sich den veränderten Bedingungen an. Von der 16. Minute ab auftretende Schwankungen in der Tropfenzahl sind so gering, daß von praktischer Gleichheit gesprochen werden kann. Wir vermissen sowohl bei von vergifteten Tieren wie von gesunden stammenden Ohren die von Krakow gefundenen periodischen Schwankungen, die Ausdruck periodischer, vom zentralen Nervensystem unabhängiger Gefäßtonusschwankungen sein sollen.

Da Schneider unter Eppinger in ihren Durchströmungsversuchen (Histamin und Novalginzusatz zur Durchströmungsflüssigkeit) einen

Einfluß der Durchströmungszeit auf die Gewichtszunahme vermißte — „es ergibt sich, daß die Gewichtszunahme von der Durchströmungszeit unabhängig ist" —, sind wir dieser Frage nachgegangen. In das Schaubild 1 wurden die von jedem Tier erhaltenen Gewichtsdifferenzen der beiden Gefäßpräparate eingetragen, und zwar als Ordinaten die nach 60 Minuten, und als Abszissen die nach 120 Minuten festgestellten Gewichtsdifferenzen. Die graphische Darstellung hat das klare und außerordentlich wichtige Ergebnis, daß der gesuchte Zusammenhang zwischen Gewichtsdifferenzen und Durchströmungsdauer in der vom Nullpunkt der Koordinaten ausgehenden Geraden graphisch dargestellt und gefunden wird. Die Neigung der Geraden besagt, daß nach 2 Stunden Durchströmungsdauer im Mittel nur das 1,88fache der Zunahme in 1 Stunde gefunden wird, daß also Verdopplung der Durchströmungszeit nicht zu doppelter Gewichtszunahme führt. Es wird von uns angenommen, daß die Unregelmäßigen in der Einstellperiode hieran die Schuld haben können.

G. Schneider vermißte bei Durchströmung mit reinem Normosal und bei peinlichster Präpariertechnik eine Übereinstimmung in der abfließenden Tropfenzahl der beiden von einem Tier stammenden Ohren. Wenn diese Frage auch an der Peripherie unseres Problems liegt, so glaubten wir ihr dennoch nachgehen zu sollen, allein unser großes Beobachtungsgut rechtfertigt dies. Wir haben außerdem die Möglichkeit, die beiden Ohren ein und desselben Tieres auf Tropfenzahl und Gewichtszunahme hin vergleichen zu können. In die Tabelle 1 wurden unter A die von gesunden und unter B die von vergifteten Tieren stammenden Gefäßpräparate so aufgeführt, daß Spalte 3 und 5 die Werte für die Gewichtsdifferenzen und Tropfenzahlen/5 Minuten des einen 60 Minuten durchströmten. Spalte 4

Tabelle 1 A.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Gewichtsdifferenz in g		Tropfenzahl	
		60	120	60	120
1	3791	2,5	3,2	8	13
2	3790	2,7	2,3	36	15
3	3794	3,8	3,0	70	75
4	50	4,0	4,7	82	102
5	3589	4,3	4,5	79	76
6	969	4,3	5,8	38	43
7	3793	5,2	5,3	88	82
8	3787	10,1	7,7	78	84
9	3795	3,3	2,8	72	44
10	103	3,6	4,1	65	34
11	3792	4,2	5,2	14	118
12	3788	4,8	5,5	35	71
13	3587	5,0	2,9	120	81

Tabelle 1 B.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Gewichtsdifferenz in g		Tropfenzahl	
		60	120	60	120
14	34	1,6	2,1	20	44
15	79	2,9	1,5	94	32
16	685	3,0	3,0	45	41
17	700	5,2	4,2	37	32
18	36	5,3	6,1	96	73
19	26	6,5	5,6	74	83
20	28	10,2	12,1	53	61
21	682	11,4	11,6	34	50
22	669	12,7	12,8	44	38
23	3779	13,0	13,4	42	62
24	37	5,8	2,7	62	58
25	27	6,6	11,8	175	80
26	30	7,0	9,2	232	52
27	95	7,8	13,2	40	32
28	66	11,7	7,2	103	97
29	96	19,3	13,9	74	52

und 6 dieselben Werte für das andere 120 Minuten durchströmte Gefäßpräparat genau des gleichen Tieres bringen. Man entnimmt der Tabelle: Absolute Gleichheit der Gewichtsdifferenzen wird bei den gesunden Tieren ebenso wie absolute Übereinstimmung der Tropfenzahlen vermißt. Unter den vergifteten Tieren fällt bei einem (685) absolute Übereinstimmung der Gewichtsdifferenzen auf, während die Tropfenzahlen, wenn auch wenig, differieren. Weitgehende Übereinstimmungen, die man praktisch als Gleichheit der Tropfenzahlen und der Gewichtsdifferenzen der beiden Ohren bei einem Tier bezeichnen kann, findet man bei der Mehrzahl der von gesunden und bei den meisten der von vergifteten Tieren stammenden Ohren. Praktische Übereinstimmung von Tropfenzahlen und Gewichtsdifferenzen fanden wir bei 8 unter den 13 von gesunden, und bei 10 unter den 16 von vergifteten Tieren stammenden Ohren. In der Tabelle 1 sind unter der laufenden Nummer 1—8 die gesunden Tiere mit praktischer Übereinstimmung von Tropfenzahlen und Gewichtsdifferenzen oder wenigstens praktischer Gleichheit einer der beiden Größen der beiden Gefäßpräparate, unter 14—23 der laufenden Nummer die Gefäßpräparate vergifteter Tiere mit praktischer Gleichheit im Verhalten beider Werte angeführt. Bei den gesunden Tieren 9—13, bei den vergifteten, die unter 24—29 aufgeführt wurden, vermissen wir eine Übereinstimmung der Größen. Eine absolute Übereinstimmung von Gewichts- und Tropfenzahlen der beiden Ohren ist nach unserer Ansicht als Zufallsbefund zu beurteilen, da mit einer experimentellen Streuung der Messungen von 5—10% zu rechnen ist, besonders bei Berücksichtigung des Einflusses von etwa schwankenden Umgebungsfaktoren. Dabei ist an den Einfluß von Temperaturschwankungen sowie Änderungen des Flüssigkeitsdruckes, Größen, die nicht

Tabelle 2.

Tierart	Gruppenzugehörigkeit	Anzahl der Tiere im 1 Std.-Versuch	Anzahl der Tiere im 2 Std.-Versuch	Gesamtzahl	Gewichtsdifferenz in g: Gruppengrenzen	Gewichtsdifferenz in g: Mittelwert C	Gewichtsdifferenz in g: T 50-Bereich $g_{25}-g_{75}$	Tropfenzahl in 5 Minuten: Gruppengrenzen	Tropfenzahl in 5 Minuten: Mittelwert C	Tropfenzahl in 5 Minuten: T 50-Bereich $g_{25}-g_{75}$
Gesund	1	5	5	10	$\leqslant 8$	3,3	2,4— 4,4	$\leqslant 48$	34	24—41
„	2	8	7 (1)	15 (1)	$\leqslant 8$	4,7	3,6— 5,7	> 58	81	72—91
Vergiftet	1	4	4	8	$\leqslant 8$	3,3	2,4— 4,4	$\leqslant > 48$	34	24—41
„	2	4	4 (2)	8 (2)	$\leqslant 8$	4,7	3,6— 5,7	> 58	81	72—91
„	3	8	5 (1)	13 (1)	> 8	12,3	11,3—13,0	30—110	51	41—63

absolut konstant erhalten werden können, zu denken. Soweit ausgesprochene Unterschiede zwischen den Werten der beiden Ohren bestehen, wie sie wiederholt festgestellt wurden, dürfen konstitutions- oder erbbedingte Unterschiede vorliegen.

Die Tabelle 2 enthält das nach den Prinzipien der „Großzahlforschung" errechnete Versuchsergebnis: Die Gesamtsumme der Beobachtungen setzt sich aus Summanden zusammen, die gut abgesetzten Gruppen angehören. Die jede Gruppe kennzeichnenden Grenzen der Gewichts- und Tropfenwerte sind angegeben.

Die bei drei Präparaten, die alle von vergifteten Tieren stammen, beobachteten extremen Gewichtszunahmen bzw. außerordentlich hohen Tropfenzahlen möchten wir durch unvermeidbare experimentelle Mängel erklären. In der Tabelle 2 sind die diesen Tieren zukommenden extremen Werte als Fußzahl in Klammern beigegeben.

Aus der Gesamtzahl der von diphtheriekranken Tieren stammenden Gefäßpräparate bilden 13, das ist die Hälfte dieser Präparate, eine besondere, bei den gesunden Tieren nicht beobachtete Gruppe. Bei einer Tropfenzahl, wie sie auch bei von gesunden Tieren stammenden Präparaten bekannt ist, liegen die Gewichtswerte erheblich über den an gesunden Präparaten festgestellten.

Hiermit ist also eine abnorme Durchlässigkeit der Gefäßwand bei diphtherischer Intoxikation auch für Wasser und Salze erwiesen. Sehr wesentlich ist, daß eine Gefäßerweiterung bei den vergifteten Tieren, bei denen die Permeabilitätssteigerung gefunden wurde, fehlte. Wenn auch bei der di-Intoxikation des Kaninchens Kapillardilatation und Hyperämie im Bereich abdomineller und zahlreicher Organkapillaren bekannt ist, so lehren unsere Ergebnisse, daß die permeabilitätsfördernde Noxe direkt an der Gefäßwand angreifen kann, ohne unbedingt der Vermittlung neurohormonaler Faktoren und einer darausfolgenden Dilatation zu bedürfen.

Literatur.

Beckel, A., u. Daeves: Stahl u. Eisen **54** (1934). — Beckel: Z. Unters. d. Lebensm. 1933, S. 1—2; 1934, S. 1. — Beckel: Berichte des 9. Milchwirtschaftlichen Weltkongresses 1937. — Beckel u. Daeves: Chem. Fabrik **14** (1941). — Beckel u. Daeves: Arch. math. Wirtsch. u. Sozialforsch. Jg. 6, S. 1. — Ströder, Habilitationsschrift Düsseldorf 1941. - Ströder, Ergebnisse Innere Medizin u. Kinderheilk. (erscheint demnächst). — Ströder, Klinische Wochenschrift (erscheint demnächst).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Bedeutung der Ringerlösung*.

I. Mitteilung.

Von

Norbert Brock.

Mit 21 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. September 1941.)

Pharmaka sind Stoffe, die eine Änderung im Ablauf von Lebensvorgängen bewirken können. Da die Lebensvorgänge an die Zelle gebunden sind, muß sich jede pharmakologische Wirkung auch letzten Endes auf Zellen erstrecken. Der jeweilige (physiologische oder pathologische) Zustand der Zellen bzw. Gewebe wird seinerseits wieder von Bedeutung für das Ausmaß oder gar die Art einer solchen Wirkung sein müssen. Diese Überlegungen veranlaßten uns, uns mit der Physiologie und Pharmakologie der Zelle zu beschäftigen.

Wir untersuchten dabei vor allem den Stoffwechsel von Zellen und Geweben. Diesen „Test" wählten wir, weil die notwendigen grundlegenden Kenntnisse nur an einer Funktion gewonnen werden können, die allen Zellen gemeinsam ist und so grundsätzliche Bedeutung hat, daß die Auswirkung aller Zustands- und Funktionsänderungen auf sie von vornherein wahrscheinlich ist. Es versteht sich von selbst, daß demgegenüber das Studium einer speziellen Funktion, etwa der Kontraktion von muskulären Organen, keine allgemeinen Schlüsse über das Leben und seine Bedingungen erlaubt. Da die Muskelfunktion aber so besonders leicht sichtbar und meßbar ist, bildet sie in ihren verschiedenen Erscheinungsformen — an Skeletmuskel, Darm, Gefäßen, Herz, Uterus, Bronchien usw. — in überwiegendem Maße den Gegenstand der pharmakologischen Forschung. Das hat notwendigerweise zu einer gewissen Einseitigkeit in der Betrachtung geführt. Planmäßige Untersuchungen z. B. des Gewebsstoffwechsels würden hier also eine zweckmäßige Ergänzung bringen können.

Zu unseren Untersuchungen benutzten wir stets die von Barcroft[1] angegebene und von Warburg[2] modifizierte manometrische Methode zur Messung des Gewebsstoffwechsels in einer früher ausführlich beschriebenen Form[3], die uns die kurvenmäßige Darstellung des Stoffwechselablaufs (nach der Zeit) erlaubt. Da diese Methode nicht nur den

* Die Arbeiten wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

[1] Barcroft, J.: J. Physiol. (Brit.) **37**, 12 (1908). — [2] Warburg, O.: Biochem. Z. **152**, 51 (1924). — [3] Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936); Arch. exper. Zellforsch. **22**, 587 (1939).

Atmungsstoffwechsel mit Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydabgabe, sondern auch wesentliche Teile des Spaltungsstoffwechsels quantitativ recht genau wiedergibt und Änderungen des Stoffwechsels mit ausreichender Schnelligkeit folgt, vermag sie ein vielseitiges und klares Bild sowohl vom Zustand der Zellen bzw. des Gewebes als auch von den eintretenden Änderungen zu geben.

Mit dieser Methode haben wir den Kohlehydratstoffwechsel unter physiologischen und pathologischen Bedingungen an verschiedenen Zellen und Geweben untersucht, und zwar sowohl am Seeigelei als auch an Warmblütergewebsschnitten. Dabei beschäftigten wir uns nicht nur mit den Stoffwechselvorgängen ruhender Zellen und Gewebe, sondern auch mit den Änderungen, welche die physiologische Funktion begleiten. Im Rahmen dieser Untersuchungen machten wir drei Beobachtungen, die uns für die weitere Arbeit grundlegend wichtig zu sein scheinen.

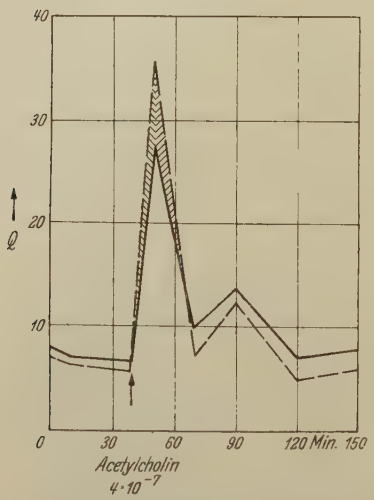


Abb. 1. Die Wirkung von Azetylcholin auf den Stoffwechsel von Gewebsschnitten der Katzen-Speicheldrüse. Ausgezogene Linie: Sauerstoffverbrauch. Gestrichelte Linie: CO_2-Bildung. Schraffiertes Feld: Säurebildung. Die Mengenangaben beziehen sich in allen Kurven auf die Endkonzentration.

An Gewebsschnitten der Speicheldrüse von Warmblütern, die sich als hervorragend geeignetes Objekt für unsere Untersuchungen erwies, stellten wir als erstes fest, daß ein „physiologischer" Reiz, wie er durch das Hormon Azetylcholin ausgelöst werden kann, gesetzmäßig eine charakteristische Reaktion des Stoffwechsels auslöst[4] (siehe Abb. 1), die durch vorherigen Zusatz von Atropin verhindert wird. Diese Tatsache lieferte den schlüssigen Beweis dafür, daß die Gewebe unter unseren Versuchsbedingungen tatsächlich „leben" und sogar reaktionsfähig sind. Das ließ sich noch weiter durch den Nachweis erhärten, daß die Höhe der Atmung von Speicheldrüsenschnitten bzw. ihre Steigerung nach Einwirken von Azetylcholin nicht nur größenordnungsmäßig, sondern praktisch genau mit jenen Werten übereinstimmt, die Barcroft und Piper[5] am intakten Organ in Ruhe und nach Chorda-Reizung gemessen haben. Damit war der alte Einwand, Gewebsschnitte seien keine lebenden Gewebe, endgültig widerlegt.

[4] Druckrey, H.: Internat. Physiolog. Congress Zürich (1938); Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 687 (1939). —
[5] Barcroft, J., u. H. Piper: J. Physiol. (Brit.) **44**, 359 (1912).

Die zweite Beobachtung war die, daß der z. B. durch Azetylcholin ausgelöste „Erregungsstoffwechsel"* nicht eine einfache Steigerung des Stoffwechsels darstellt, sondern vor allem qualitativ vom „Ruhestoffwechsel"* verschieden ist. Dies sowohl hinsichtlich der Substrate, die dazu erforderlich sind[6] als auch hinsichtlich der Art des Stoffwechsels: Der Ruhestoffwechsel (ungeschädigter Gewebe) ist ein reiner Atmungsstoffwechsel, Endprodukt ist das osmotisch inaktive und leicht diffusible Kohlendioxyd. Beim „Erregungsstoffwechsel" treten dagegen zusätzlich Spaltprozesse mit einer Bildung schwer diffusibler „fixer" Säuren auf („aerobe Glykolyse"); hier entstehen also Ionen[7], und zwar oft in beträchtlichem Ausmaß. Bei pharmakologischer Reizung (Physostigmin) machten wir[4] ganz entsprechende Beobachtungen (siehe Abb. 3 B), die sich gesetzmäßig wiederholen ließen und auch andernorts gefunden wurden[8].

Drittens erhoben wir den zunächst überraschend erscheinenden Befund, daß viele „schädigende"* Eingriffe Änderungen des Gewebsstoffwechsels zur Folge hatten, die den nach physiologischer oder pharmakologischer Reizung beobachteten weitgehend entsprachen[4]: Sie verursachten ebenfalls einen Stoffwechselanstieg bis um mehrere 100% (also keineswegs, wie oft ohne weiteres unterstellt wird, immer eine Senkung) und lösten eine aerobe Säurebildung („Glykolyse") aus. Das Gewebe scheint demnach auf unphysiologische Reize genau so reagieren zu können wie auf physiologische oder pharmakologische Reize. Bei allen diesen Untersuchungen war eine weitgehende Übereinstimmung im Verhalten der verschiedensten Gewebsarten von Warmblüterorganen bis zu den Seeigeleiern[9] festzustellen. Das dürfte der grundlegenden Bedeutung der Atmung und Spaltung für alle tierischen Zellen entsprechen.

Nachdem wir uns so einen ungefähren Einblick in die Stoffwechselvorgänge unter physiologischen und pathologischen Bedingungen verschafft hatten, hielten wir es für notwendig, zunächst die Bedeutung jener Stoffe zu untersuchen, an deren Vorhandensein das Leben gebunden ist. Wir beschäftigten uns in einer früheren Arbeit bereits mit einigen der für den Kohlehydratstoffwechsel wichtigsten Substrate[6] und kommen nun zu Versuchen über die Bedeutung der verschiedenen anorganischen Ionen, deren Notwendigkeit seit Ringer[10] bekannt ist. Die meisten der bisher vorliegenden Untersuchungen sind an muskulären Organen erhoben worden. Es war also die Frage, ob andere Gewebsarten sich ebenso ver-

* Diese und ähnliche hier von uns gebrauchten Bezeichnungen sind lediglich als schlagwortmäßige Abkürzungen für im einzelnen erläuterte Vorgänge anzusehen. Erst die fortschreitende Erkenntnis wird eine Klarstellung ihrer physiologischen Bedeutung ermöglichen.

[6] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938); Loch, W.: Diss. Berlin 1939. — [7] Druckrey, H., Int. Physiol. Congr. Zürich 1938; Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naturwiss. **27**, 418, 1939, Bioch. Z. **302**, 393 (1939). — [8] Deutsch, W., u. H. S. Raper: J. Physiol. (Brit.) **92**, 439 (1938). — [9] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 436 (1938); **188**, 451 (1938); **193**, 711 (1939). — [10] Ringer, S.: J. Physiol. (Brit.) **3**, 380 (1882); **4**, 29, 222, 370 (1884); **5**, 249 (1884); **6**, 361 (1884).

halten würden. Dies um so mehr, als die anorganischen Ionen den Quellungszustand von Kolloiden stark beeinflussen [11] und damit auf die kontraktile Substanz besondere Wirkungen haben müssen, die in diesem Maße vielleicht nur für Muskelgewebe, nicht aber für andere Zellen gelten.

Bereits bei vorangegangenen Untersuchungen [7] über die Bedeutung des Kaliums fanden wir, daß dies Kation entgegen der allgemeinen Annahme keineswegs nur auf den Quellungszustand wirkt, sondern in enger und anscheinend unmittelbarer Beziehung zu Stoffwechselvorgängen steht. Es wurde vom Gewebe stets dann — aber auch nur dann — benötigt, wenn im Stoffwechsel „fixe" Säuren entstanden (z. B. „Glykolyse"), also beim „Erregungs-" und „Schädigungs"stoffwechsel*, sowie vor allem beim Erholungsvorgang, in der Ruhe dagegen nicht. (Vgl. dazu die Annahme Overtons über die Verknüpfung des Ionenaustausches mit der „adenoiden" Tätigkeit der Zellen.) Wir konnten damals als Ursache für diesen Zusammenhang weitgehend wahrscheinlich machen, daß das Kalium für das Auswandern der im Stoffwechsel entstandenen bzw. freigesetzten Anionen durch die Zellgrenzschichten nach außen zur Erhaltung des Ionengleichgewichts notwendig ist. Ferner scheint es bei der Aufnahme von Kohlehydrat durch die Zelle mitzuwirken. Das hängt offenbar damit zusammen, daß das Kalium das einzige in ausreichender Menge vorhandene Kation ist, das die Grenzschichten der Zellen unter physiologischen Bedingungen permeieren kann. Fehlte Kalium, so blieb bei den untersuchten Geweben die „Glykolyse" aus. Zusatz von Kalium ließ sie wieder auftreten. Damit war erstmalig die obligate Bedeutung des Kaliums für einen Stoffwechselvorgang bei der Zelle erwiesen. Eine solche enge Verknüpfung gerade eines Kations mit dem Kohlehydratstoffwechsel war eigentlich zu erwarten, weil ja alle Produkte des Kohlehydratstoffwechsels Säuren, also Anionen sind, und weil auch ein anorganisches Anion, nämlich die Phosphorsäure im Zellstoffwechsel eine entscheidende Rolle spielt. So sind auch ähnliche Zusammenhänge schon verschiedentlich vermutet [12] und inzwischen auch von Verzar und Somogyi [13] an interessanten Beispielen weiter belegt worden**.

[11] Hofmeister, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **24**, 247 (1888); **25**, 13 (1888); **28**, 210 (1891). [12] Z. B.: Wilbrandt, W.: Erg. Physiol. usw. **40**, 204 (1938). — [13] Verzar, F., u. J. C. Somogyi: Nature (Ld) **144**, 1014 (1939).

* Dies gilt nur für bestimmte Formen der „Glykolyse", bei denen die Kohlehydratspaltung in der Zelle erfolgt („Glykogenolyse"), vgl. unsere Ausführungen in der Biochem. Z. **300**, 1 (1938); **302**, 393 (1939).

** Eine ganz entsprechende Verknüpfung des Kaliumaustausches mit der „Gärung" fand nach mündlicher Mitteilung auch N. Nielsen (Kopenhagen) an Hefe.

Ferner sei auf eine Mitteilung von E. J. Conway und P. J. Boyle im Oktoberheft der Nature von 1939, Seite 709, hingewiesen, die uns erst jetzt zugänglich wurde. Diese Autoren nehmen an, daß die Kalium-Anreicherung in der Zelle darauf zurückzuführen ist, daß in der Zelle aus permeablen Anionen impermeable werden, die Kalium in der Zelle binden. Der umgekehrte Vorgang soll dann zur Kalium-Auswanderung führen.

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich nun mit der Bedeutung der anderen Kationen, vornehmlich des Calciums und Natriums, ferner der Isohydrie und der Isotonie, also kurz: mit der biologischen Funktion der in der Gewebsflüssigkeit vorhandenen Ionen. Die Bedeutung solcher Untersuchungen beschränkt sich keineswegs etwa auf die im Experiment bei Verwendung sogenannter physiologischer Lösungen gegebenen Verhältnisse, sondern erstreckt sich durchaus auch auf die Verhältnisse im lebenden Organismus. Denn wenn auch die „physiologischen" Salzlösungen für die Durchströmung isolierter Organe vom Gefäßsystem her durchaus unphysiologisch sind, weil sie den wichtigen kolloidosmotischen Druck des Blutes nicht berücksichtigen und demgemäß auch schädigende Wirkungen haben (Ödembildung), sind solche Salzlösungen für die Untersuchung isolierter Zellen oder Gewebe dagegen durchaus physiologisch und vor allem geeigneter, als etwa Blut oder Serum, weil die Zellen der Organe im Organismus ja — wenigstens unter normalen Bedingungen — nirgends von Blut oder Eiweißlösungen unmittelbar umspült sind, sondern von der Gewebsflüssigkeit. Diese ist aber praktisch eiweißfrei und hat etwa die gleiche Zusammensetzung, wie die physiologischen Salzlösungen.

Eine Darstellung des neueren Schrifttums erübrigt sich, da dieses in einschlägigen Handbuchbeiträgen und Lehrbüchern [12, 14] vorliegt.

Die von uns verwendete Methode ergibt sich mit hinreichender Genauigkeit aus unseren früheren Mitteilungen. Als „normale" Suspensionsflüssigkeit für die Gewebsschnitte diente eine Ringer-Locke-Lösung mit folgender Zusammensetzung:

96 ccm 0,155 mol. NaCl — 2 ccm 0,11 mol. $CaCl_2$ *
2 ccm 0,155 mol. KCl * — 20 ccm 0,155 mol. $NaHCO_3$
und 200 mg% Glucose.

Die bei den Versuchen gebrauchten Abweichungen sind von Fall zu Fall angegeben. Der Gasraum enthielt 95% O_2 und 5% CO_2, das p_H betrug 7,40 (gemessen und berechnet).

In den Kurven gibt die Ordinate stets die verbrauchte oder entstandene Gasmenge in cmm pro mg Gewebe Trockensubstanz und Stunde an (reduziert auf 0° und 760 mm Hg), die Abzisse die Zeit. Die ausgezogene Linie stellt die Höhe des Sauerstoffverbrauchs (Q_{O_2}) dar, die gestrichelte Linie die der freigesetzten Gesamt-CO_2 (Q_{CO_2}). Ein etwaiger Überschuß der CO_2-Bildung über den Sauerstoffverbrauch gibt (unter Zugrundelegung eines maximalen RQ. von 1) die Höhe der Bildung „fixer" Säuren an (= schraffiertes Feld, $Q^S_{O_2}$).

---

[14] Höber, R.: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1926.

* Also 10 mg% Kalium und 7,3 mg% Calcium, entsprechend der üblichen Zusammensetzung der Ringer-Lösung. Das Serum enthält demgegenüber bekanntlich 18—30 mg% Kalium und 8—12 mg% Calcium.

Die Zahl der dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuche übersteigt 500. Im Interesse der Kürze sind indessen nur solche Versuche geschildert worden, deren Kenntnis für das Verständnis der Zusammenhänge unerläßlich notwendig erschien.

A. Die Bedeutung der Kationen.

Ringer[10] hat gezeigt, daß eine isotone Natriumchloridlösung nicht in der Lage ist, die Funktion des isolierten Froschherzens zu erhalten, vielmehr mußte Kalium und Calcium in einem bestimmten Verhältnis gleichzeitig vorhanden sein. Das Bestehen eines Optimums für das Kalium-Calcium-Verhältnis deutete darauf hin, daß den beiden Ionen eine spezielle und gemeinsame Bedeutung für das Leben zukäme. Die Frage, in welchem Umfange diese Ionen für Leben und Reaktionsfähigkeit eines Gewebes bedeutsam sind, welche Wirkungen sie ausüben, und wie diese Wirkungen mit dem Lebensgeschehen im Gewebe verknüpft sind, bildet den wesentlichen Gegenstand der folgenden Untersuchungen. Aus der Art dieser Fragestellung ergab sich schon zum großen Teil das methodische Vorgehen. Wir verfuhren dabei meist so, daß wir unter Konstanthaltung aller anderen Bedingungen ein Ion ganz oder teilweise ausschalteten und die dabei auftretenden Ausfallserscheinungen zu analysieren versuchten. Der zweite Schritt bestand in dem Versuch, die eingetretenen Ausfallserscheinungen durch Zugabe des fehlenden Bestandteiles zur Lösung zu beseitigen oder, zum dritten, den Ersatz eines solchen fehlenden Ions durch ein anderes Ion zu versuchen. Die Bedeutung des Kaliums haben wir früher bereits ausführlich behandelt[7]. Wir können uns daher dem Calcium zuwenden.

I. Calcium.

a) Versuche mit Lösungen ohne Calcium.

Zunächst haben wir untersucht, welche Wirkung der völlige Entzug des Calciums auf den Stoffwechselablauf der Speicheldrüse hat.

Dabei war zu erwarten, daß es wegen der bekannten großen Haftfähigkeit des Calciums an den Eiweißkörpern sehr schwer sein würde, das Gewebe völlig calciumfrei zu spülen. Die Schnitte wurden deshalb stets mit besonderer Sorgfalt gründlich in größeren Mengen calciumfreier Nährlösung abgespült, häufig sogar unter Erwärmung im Thermostaten und unter gleichzeitiger Sauerstoffzufuhr. Als Kontrolle wurden Schnitte in normaler Locke-Lösung den gleichen Eingriffen ausgesetzt; diese zeigten indessen in ihrem Verhalten keinerlei Abweichung von der Norm.

Bei Fehlen von Calcium traten schon im „Ruhestoffwechsel" Störungen auf, die erkennen ließen, daß das Gewebe durch den Calciummangel geschädigt wird. Während Speicheldrüsenschnitte in einer physiologischen

Lösung von Anfang an eine normale Atmung mit einem RQ. unter 1 haben, war in der calciumfreien Lösung die Atmung offenkundig gestört. Es traten Spaltprozesse mit aerober Säurebildung* auf (Kurven B –D der Abb. 2, Anfangsteil, schraffiertes Feld), die erst nach etwa 1 Stunde wieder verschwanden. Die Atmung fiel dabei von anfänglich erhöhten Werten stetig ab. Dieser Stoffwechsel kennzeichnet nach unseren früheren Befunden das geschädigte Gewebe. Wurde nun durch Zugabe von Azetylcholin ein [physiologischer Reiz gesetzt, so trat trotz der offensichtlich schädigenden Wirkung des Calciummangels noch die charakteristische Stoffwechselreaktion ein (Abb. 2 D), wenn auch die Höhe der Stoffwechselsteigerung etwas geringer war als unter normalen Bedingungen. Die Reaktion ließ sich nach einiger Zeit sogar von neuem auslösen. Die Dinge liegen hier also offenkundig etwas anders, als man es nach den Ergebnissen solcher Versuche am Froschherzen erwarten mußte, das bekanntlich nach Calciumentzug stillsteht.

Indessen deutete die oben erwähnte Beobachtung, daß noch lange Zeit nach dem Einschalten des Versuchs eine Säurebildung nachweisbar war und der Stoffwechsel mehr und mehr absank, bereits darauf hin, daß das Gewebe doch geschädigt ist und sich nur langsam erholen kann.

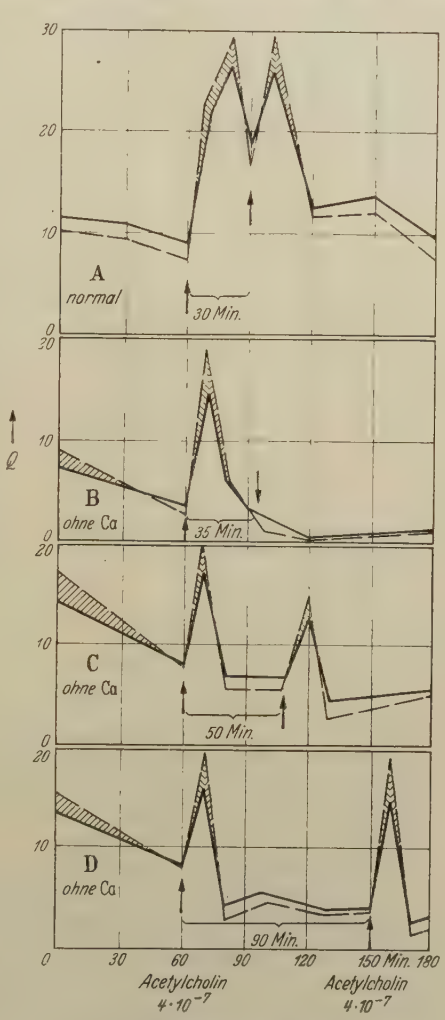


Abb. 2. Die Bedeutung des Calciums für die Wiederherstellung der Erregbarkeit nach einem vorangegangenen Reiz.
Kurve A: in normaler Locke-Lösung, Kurven B—D: bei Fehlen von Calcium. Bei den Pfeilen: jedesmal Azetylcholin $4 \cdot 10^{-7}$.

* Wir sprechen absichtlich nicht von „aerober Glykolyse", sondern von einer Säurebildung schlechthin, denn wir messen nur diese. Mag auch die „Glykolyse" oder „Glykogenolyse" der wesentlichste säurebildende Stoffwechselvorgang sein, so haben wir doch Hinweise dafür, daß auch noch andere Säuren in Frage kommen, als etwa nur die Milchsäure.

Wir haben deshalb die Frage der Erholungsfähigkeit des Gewebes in normaler und calciumfreier Locke-Lösung näher untersucht. Dies geschah durch Feststellen der Zeit, die das Gewebe nach einem einmaligen Reiz gebraucht, um auf einen wiederholten Reiz wieder reagieren zu können. Unter normalen Versuchsbedingungen ist dies bereits 30 Minuten nach einem Reiz wieder der Fall (Abb. 2 A), also noch vor dem völligen Abklingen des „Erregungsstoffwechsels". Fehlte dagegen Calcium in der Nährlösung, so blieb ein wiederholter Reiz, der sogar erst 35 Minuten nach dem ersten erfolgte, unbeantwortet (Abb. 2 B). Das Gewebe erwies sich als „refraktär", die Erholung war zu diesem Zeitpunkt noch nicht eingetreten. 50 Minuten nach dem ersten Reiz ließ sich schon wieder eine schwache Reaktion auslösen, aber erst nach 90 Minuten Intervall erreichte sie das normale Ausmaß wieder (Abb. 2 C und D). Die Erholungszeit war bei Calciummangel also auf das Dreifache verlängert. Das Calcium scheint demnach — ähnlich wie wir dies für das Kalium bereits gezeigt haben[7] — vor allem für die Erholung, die Wiederherstellung der Erregbarkeit notwendig zu sein. Darauf werden wir noch verschiedentlich zurückkommen.

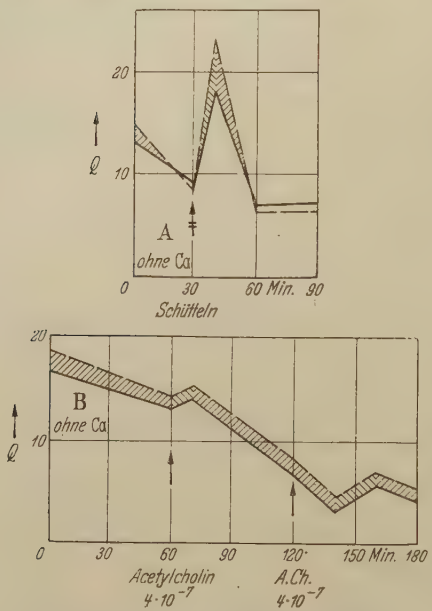


Abb. 3. Der Stoffwechsel von Speicheldrüsenschnitten in Locke-Lösung ohne Calcium. Kurve A: Bei Fehlen von Calcium löst eine geringe Schädigung (beim Pfeil starkes Schütteln des Gefäßes) eine Reaktion des Stoffwechsels aus. Kurve B: Eine stärkere Schädigung (vorübergehender Sauerstoffmangel) führt zu einer anhaltenden Säurebildung. Das Gewebe spricht nicht mehr auf Azetylcholin an.

Diese Versuche zeigten uns, daß eine Prüfung der Reaktionsfähigkeit zu verschiedenen Zeiten nach einem vorangegangenen Reiz auch in unserer Versuchsanordnung als Kriterium für den Eintritt der Erholung brauchbar ist. Auch hinsichtlich unphysiologischer Reize haben wir früher[9] ganz entsprechende Beobachtungen gemacht, und zwar am Seeigelei. Wurde dort nach einer vorausgegangenen „Schädigung" derselbe unphysiologische Reiz zu früh wiederholt, so trat die charakteristische Stoffwechselsteigerung ebenfalls nicht auf, wohl aber, wenn den Zellen genügend Zeit zur Erholung gelassen wurde.

Da bei Fehlen von Calcium die Erholung schon nach einem physiologischen Reiz gestört ist, müßten sich nach unphysiologischen Reizen noch stärkere Störungen ergeben. Wir haben deshalb anschließend unter-

sucht, wie Speicheldrüsengewebe in normaler und in calciumfreier Ringerlösung auf schwache und starke schädigende Eingriffe reagiert.

Schon ein kräftiges Schütteln des Versuchsgefäßes (Steigerung der Schüttelgeschwindigkeit), das unter normalen Milieubedingungen gar keinen Einfluß auf den Stoffwechsel hat, löste bei Fehlen von Calcium dieselbe Reaktion im Stoffwechsel aus, wie wir sie für „geschädigte Gewebe" charakteristisch fanden, nämlich einen Stoffwechselanstieg mit aerober Säurebildung (Abb. 3 A). Das Gewebe war also bei Fehlen von Calcium gegen eine Schädigung viel empfindlicher als unter normalen Bedingungen.

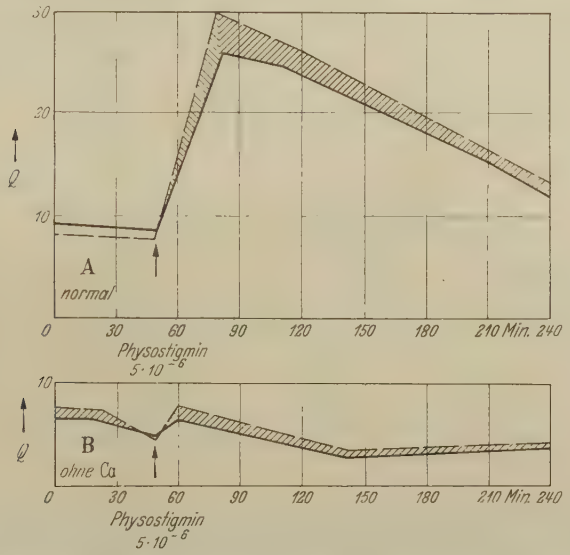


Abb. 4. Die Bedeutung des Calciums für die Wirkung des Physostigmins am Speicheldrüsengewebe. Kurve A: in physiologischer Locke-Lösung, Kurve B: in einer Lösung ohne Calcium.

Diese Verhältnisse kamen bei Anwendung stärkerer Schädigungen noch mehr zum Ausdruck. Wurde das Gewebe in normaler bzw. in calciumfreier Ringerlösung vorübergehend unter Sauerstoffmangel gehalten und anschließend unter Sauerstoff weiter untersucht, so erholte sich das Gewebe in der normalen Ringerlösung schnell wieder und reagierte auch wieder auf Azetylcholin. In der calciumfreien Lösung trat dagegen eine anhaltende aerobe Säurebildung auf. Versuche mit Azetylcholin eine Reaktion auszulösen, blieben hier erfolglos (Abb. 3 B).

Nach diesen Ergebnissen erschien es lohnend, den Einfluß des Calciummangels am Speicheldrüsengewebe auch auf die Wirkung des Physostigmins zu untersuchen. Diese reicht ja bereits in das „Unphysiologische" hinein und stellt eine stärkere Belastung des Gewebes dar als der physiologische Reiz durch Azetylcholin. Demgemäß hatte der Calciummangel hier auch deutlich schwerere Folgen. Während das Gewebe in normaler

Locke-Lösung auf Physostigminzusatz mit einem über Stunden sich hinziehenden kräftigen „Erregungsstoffwechsel" reagierte (Abb. 4 A), trat in calciumfreier Lösung praktisch überhaupt keine Reaktion ein (Abb. 4 B). In einigen Versuchen kam es lediglich zu einer (irreversiblen) Säurebildung ohne Stoffwechselsteigerung. Das Gewebe vermag also bei Fehlen von Calcium auf Physostigmin überhaupt nicht mehr zu reagieren. Darauf werden wir später noch zurückkommen.

Daß die bisher festgestellten Ausfallserscheinungen tatsächlich nur durch das Fehlen von Calcium bedingt sind, ließ sich in allen Fällen durch den Gegenversuch sichern. Zusatz von Calcium (in physiologischer Konzentration) stellte die normale Reaktionsfähigkeit auch gegenüber wiederholten Azetylcholingaben oder gegenüber Physostigmin vollständig wieder

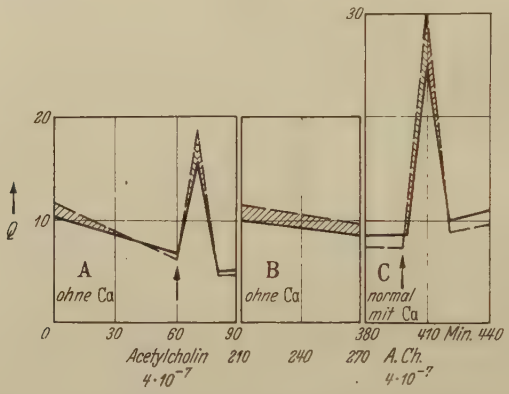


Abb. 5. Die Bedeutung des Calciums für den Gewebsstoffwechsel.
Kurve A: Bei Fehlen von Calcium ist die Reaktion auf Azetylcholin abgeschwächt. Schon im Ruhestoffwechsel treten „fixe" Säuren auf (schraff. Feld). Kurve B: Die Säurebildung hat sich verstärkt. Kurve C: Zusatz von Calcium bringt die Säurebildung vollständig zum Verschwinden und stellt die normale Reaktionsfähigkeit wieder her.

her und ließ auch eine bestehende Säurebildung verschwinden (Beispiel Abb. 5 C). —

Nach diesen Ergebnissen haben wir quantitative Versuche angeschlossen und festzustellen versucht, welche Calciumkonzentration für die Aufrechterhaltung der physiologischen Funktion notwendig ist. Da sich gegenüber der Wirkung des Azetylcholins bei Calciummangel zunächst keine Ausfallserscheinungen ergaben, die als „Indikator" dienen könnten, haben wir den Versuch gemacht, ob sich die schädigende Wirkung des Calciummangels durch gleichzeitige Erhöhung des Kaliumgehaltes steigern ließe. Diese Anordnung lag nach Erfahrungen an anderen Organen, besonders am Froschherzen, nahe.

Für diese Versuche war zunächst zu klären, wieweit die Kaliumkonzentration bei Vorhandensein von Calcium gesteigert werden kann, ohne daß Ausfallserscheinungen auftreten. Eine Erhöhung des Kalium-

gehaltes sogar bis zum 10fachen des Normalwertes hatte in solchen Versuchen noch keine Abschwächung der Reaktion des Speicheldrüsengewebes auch auf wiederholten Azetylcholinzusatz zur Folge. Erst eine Steigerung auf das 16- bis 20fache schaffte insofern deutlich ungünstigere Bedingungen, als nach Azetylcholinzusatz jetzt nur noch eine geringe Stoffwechselsteigerung eintrat.

Die gleichen Ergebnisse hatten ganz entsprechend angestellte Versuche mit Physostigmin. Die hiernach auftretende Stoffwechselreaktion, die, wie wir sahen, gegen Störungen noch weit empfindlicher ist als die Reaktion auf Azetylcholin, wurde auch bei Erhöhung des Kaliumgehaltes auf das 8fache noch nicht beeinträchtigt, sofern die Lösung nur Calcium enthielt (Abb. 6 A und B). Erst bei einer Steigerung auf das 16fache war die Physostigminwirkung wesentlich abgeschwächt (Abb. 6 C). Die Beobachtung, daß die Ausfallserscheinungen jedesmal gerade dann auftraten, wenn die Kaliumkonzentration soweit erhöht wurde, daß das normale Kaliumgefälle vom Zellinnern nach außen zum Ausgleich kam, wird uns weiter unten noch beschäftigen. Bei Anwesenheit von Calcium ist das Gewebe also gegen beträchtliche Steigerungen der Kaliumkonzentration recht unempfindlich.

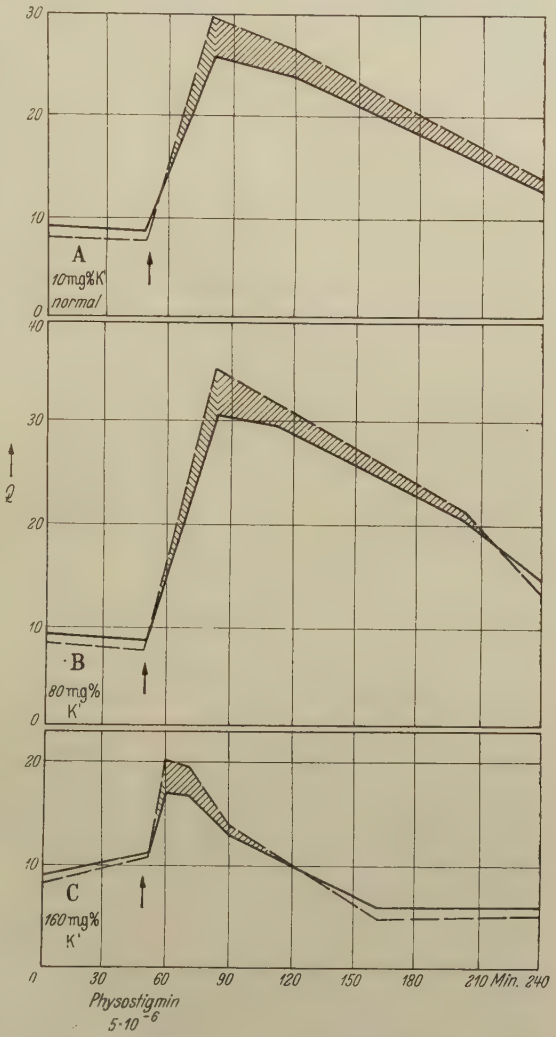


Abb. 6. Die Wirkung eines erhöhten Kaliumgehaltes in der Locke-Lösung auf die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes gegenüber Physostigmin.
Kurve A: in physiologischer Locke-Lösung, Kurve B: mit 8fach, Kurve C: mit 16fach erhöhtem Kaliumgehalt.

Nun haben wir die gleichen Versuche bei Abwesenheit von Calcium angestellt. Wurde der Kaliumgehalt in der Nährflüssigkeit unter diesen Bedingungen auch nur verdoppelt, so war die Reaktion auf Azetylcholin bereits deutlich abgeschwächt, und zwar interessanterweise schon beim „ersten Reiz" (Abb. 7 B). Eine Erhöhung der Kaliumkonzentration auf das 4fache hob die Reaktionsfähigkeit praktisch vollkommen auf (Abb. 7 C). Bei Anwesenheit von Calcium war dagegen das gleiche, wie wir sahen, erst bei einer Steigerung der Kaliumkonzentration auf das 20fache der Fall. Speicheldrüsengewebe ist also bei Fehlen von Calcium außerordentlich empfindlich gegen jede Erhöhung des Kaliumgehaltes.

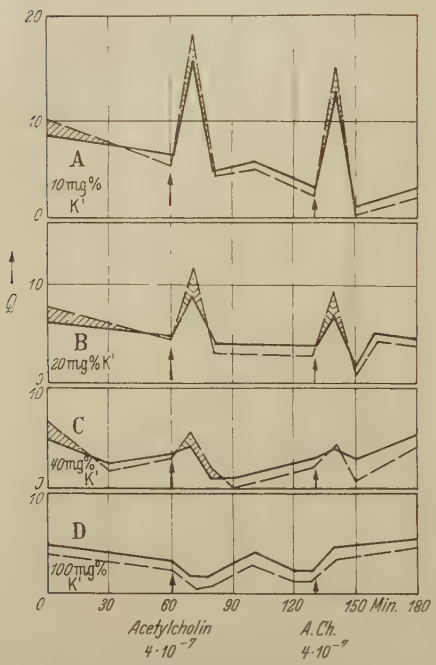


Abb. 7. Die Wirkung eines erhöhten Kaliumgehaltes bei Fehlen von Calcium auf die Reaktionsfähigkeit von Speicheldrüsengewebe gegenüber Azetylcholin.

Kurve A: normaler Kaliumgehalt, Kurve B: mit doppeltem, Kurve C: mit 4fachem, Kurve D: mit 10fachem Kaliumgehalt. Bei Calciummangel werden auch im Ruhestoffwechsel „fixe Säuren" gebildet.

Diese „Schutzwirkung" des Calciums gegenüber einer erhöhten Kaliumkonzentration kam bei weiteren Versuchen mit einer Lösung, in der alles Natrium durch Kalium ersetzt, der Kaliumgehalt also maximal gesteigert war, noch klarer zum Ausdruck. In einer solchen Lösung war die Erregbarkeit der Speicheldrüsenschnitte auch dann aufgehoben, wenn in ihr die physiologische Calciumkonzentration enthalten war. Wurden diese Gewebsschnitte aber nach 1 Stunde wieder in normale Locke-Lösung übertragen, so erholten sie sich nicht nur, sondern gewannen auch die volle Reaktionsfähigkeit wieder (Abb. 8 A). Wurde dagegen das Gewebe in der gleichen Kaliumsalzlösung bei Abwesenheit von Calcium vorbehandelt, so erholte es sich nach Übertragen in normale Locke-Lösung nicht mehr (Abb. 8 B). Calcium vermag also das Gewebe sogar vor der „giftigen" Wirkung einer reinen Kaliumsalzlösung zu schützen.

Wir haben nun versucht, jene Menge Calcium zu ermitteln, die bei zehnfach erhöhtem Kaliumgehalt für die Aufrechterhaltung der normalen Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes auf Azetylcholin gerade ausreicht. Das Verfahren erschien uns angängig, nachdem wir vorher festgestellt hatten, daß ein derart erhöhter Kaliumgehalt bei Anwesenheit

von Calcium an sich ohne Einfluß auf den Ruhe- und Erregungsstoffwechsel ist. Die Versuche ergaben, daß ein Calciumgehalt von nur 7,5% des normalen Wertes (also 0,52 mg%) schon ausreichte, um die Verhältnisse deutlich günstiger zu gestalten, als sie es in calciumfreier Ringerlösung waren (Abb. 9 C); bei 15% des normalen Gehaltes (Abb. 9 B) war im Vergleich zu den Kontrollen (Abb. 9 A) kaum mehr ein Unterschied erkennbar. Es genügt also eine sehr geringe Calciumkonzentration, um die Reaktions-

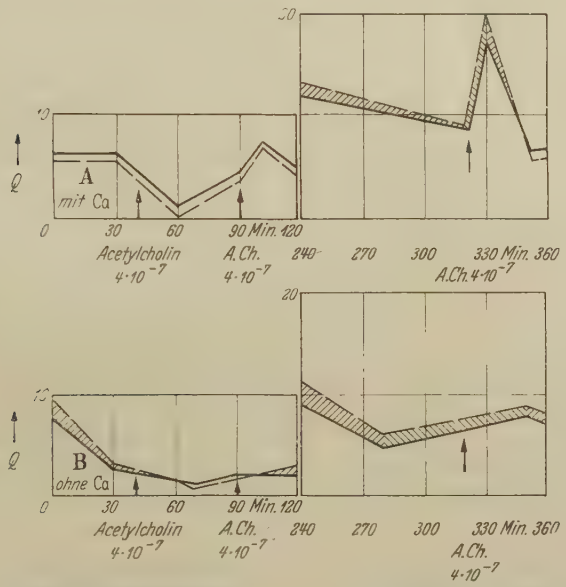


Abb. 8. Schutzwirkung des Calciums gegen die schädigende Wirkung einer unphysiologischen Lösung. Kurve A: Bei Anwesenheit von Calcium in der unphysiologischen Kaliumsalzlösung (linker Kurventeil) erfolgt nach Übertragung der Schnitte in physiologische Locke-Lösung Wiederherstellung der Reaktionsfähigkeit (rechter Kurventeil). Kurve B: Bei Fehlen von Calcium in der Kaliumsalzlösung bleibt die Erholung nach Übertragen in physiologische Locke-Lösung aus, Fortbestehen einer kräftigen Säurebildung.

fähigkeit des Speicheldrüsengewebes selbst bei stark erhöhter Kaliumkonzentration zu erhalten.

Nach diesen Befunden lag es nahe, die eingangs erhobene und zunächst überraschende Beobachtung, daß das Speicheldrüsengewebe auf Azetylcholin auch in calciumfreier Ringerlösung noch fast normal reagiert, darauf zu beziehen, daß trotz des mehrfachen Auswaschens noch Calciumreste, die für die Erhaltung der Erregbarkeit ausreichen, im Gewebe vorhanden waren.

Wir haben deshalb Speicheldrüsenschnitte mehrfach in calciumfreier Ringerlösung gewaschen und dabei noch zweimal Azetylcholin einwirken lassen. Dies geschah in der Annahme, daß das Gewebe das wohl adsorptiv

gebundene Calcium bei einer Reizung leichter verlieren würde als in der Ruhe. Nach dieser Behandlung war die Reaktionsfähigkeit des Gewebes dann auch tatsächlich von Anfang an vollständig aufgehoben (Abb. 10A). Hierbei fiel wieder die schon für den Calciummangel als charakteristisch erkannte aerobe Säurebildung auf. Daß das Fehlen der Erregbarkeit allein auf das Fehlen von Calcium zu beziehen ist und nicht auf die unspezifische Schädigung durch die angreifende Behandlung, folgt schlüssig aus dem Nachweis, daß die so behandelten Schnitte nach Übertragen in calciumhaltige Ringerlösung auf Azetylcholinzusatz wieder in der üblichen Weise reagierten (Abb. 10B). Es sei ferner darauf hingewiesen, daß die Säurebildung auch hier auf Zugabe von Calcium wieder verschwand. Diese Ergebnisse erweisen auch für die Speicheldrüse die absolute Notwendigkeit einer kleinen Menge Calcium für die Reaktionsfähigkeit des Gewebes. Für das bloße Überleben, d. h. den Ablauf des „Ruhestoffwechsels", scheint Calcium dagegen ebensowenig notwendig zu sein, wie wir es seinerzeit für das Kalium fanden. Das arbeitende Gewebe ist also an ganz andere Voraussetzungen gebunden als das ruhende Gewebe.

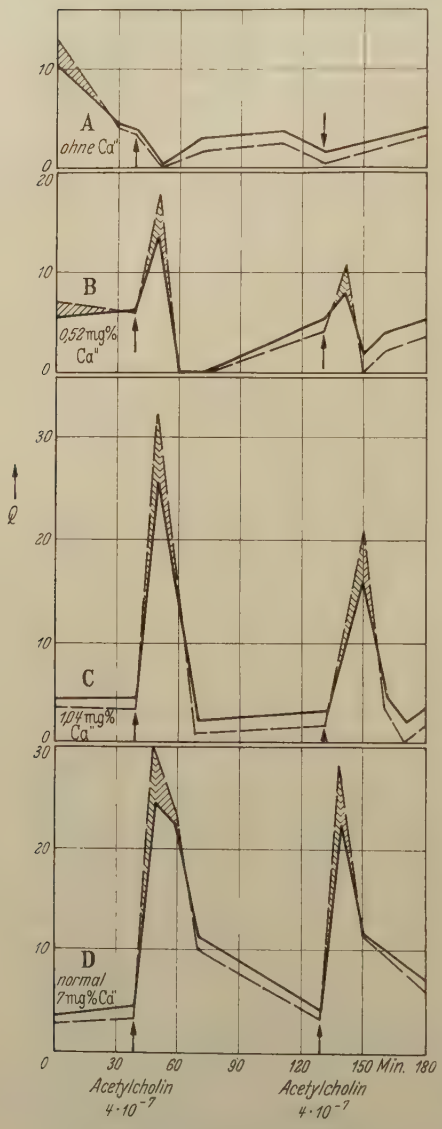


Abb. 9. Bestimmung der Mindestmenge Calcium, die für das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes gegenüber Azetylcholin in Locke-Lösung mit 10fach erhöhtem Kaliumgehalt notwendig ist. Kurve A: ohne Calcium, Kurve B: mit 7,5%, Kurve C: mit 15% des normalen Calciumgehaltes, Kurve D: mit normalem Calciumgehalt.

Eine weitere Möglichkeit, die noch vorhandenen Calciumreste auszuschalten, bestünde in der Ausfällung mit Oxalat. Wir haben diesen Versuch auch gemacht, aber die Reaktionsfähigkeit nicht aufheben können. Das überraschte uns nicht, denn in früheren Untersuchungen haben wir gesehen, daß die Fällung des Calciums durch Oxalat keineswegs immer einer völligen Ausschaltung des Calciums gleichgesetzt

werden kann [15, 16], wie es bei Versuchen am Froschherzen, das in dieser Hinsicht empfindlicher ist, meist ohne weiteres geschehen ist.

b) Die Ersetzbarkeit des Calciums durch andere Kationen.

Nach den bisherigen am Speicheldrüsengewebe gewonnenen Ergebnissen ist Calcium für den normalen Ablauf der Erregung sowie vor allem für die „Erholung" notwendig. Es wäre nun zu prüfen, ob seine Bedeutung bei diesen Vorgängen auf Eigenschaften beruht, die für das Calcium

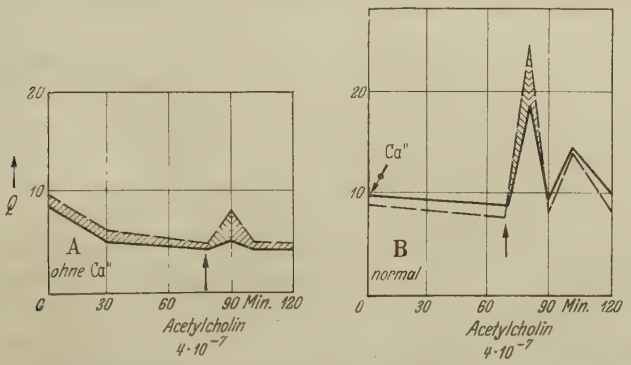


Abb. 10. Die Notwendigkeit des Calciums für die Erregbarkeit des Speicheldrüsengewebes. Kurve A: Nach sorgfältigem Auswaschen des Calciums bleibt Azetylcholin ohne Wirkung, starke Säurebildung. Kurve B: Nach Zugabe von Calcium Wiederherstellung der Reaktionsfähigkeit, Aufhören der Säurebildung.

spezifisch sind, oder ob es durch andere Erdalkali- oder durch Alkaliionen ersetzbar ist.

Physikalisch-chemisch ist von allen Kationen das Strontium am meisten mit dem Calcium verwandt. Das zeigt sich auch auf biologischem Gebiete. Seit Ringers [10] Untersuchungen am schlagenden Froschherzen steht in der Literatur außer Zweifel, daß Strontium die Rolle des Calciums übernehmen kann. Da es uns aber um die Klarstellung der Frage geht ob die dort erhobenen Befunde nicht durch die Besonderheiten der kontraktilen Substanz bedingt sind, also für andere Zell- und Gewebsarten gar nicht unbedingt gültig zu sein brauchen, wurde die Ersetzbarkeit des Calciums durch andere Kationen am Speicheldrüsengewebe systematisch untersucht. Für diese Versuche verwendeten wir eine calciumfreie Locke-Lösung mit zehnfach erhöhtem Kaliumgehalt, in der die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes vollkommen aufgehoben ist (Abb. 9 D), durch Zusatz von Calcium jedoch jederzeit voll wiederhergestellt werden kann. Zu dieser Wiederherstellung müßten also auch Strontium und Magnesium in der Lage sein, wenn sie das Calcium tatsächlich ersetzen könnten.

[15] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 165 (1940). — [16] Orzechowski, G.: Ebenda **184**, 694 (1937).

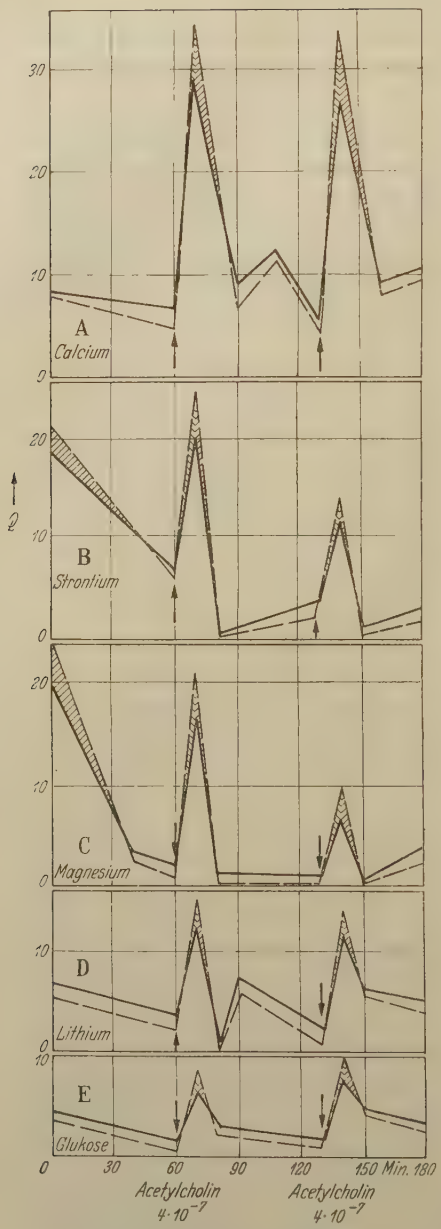


Abb. 11. Ersetzbarkeit des Calciums durch andere Kationen und durch Glucose. Versuche an Speicheldrüsenschnitten in Locke-Lösung mit 10fach erhöhtem Kaliumgehalt, in der die Reaktionsfähigkeit bei gleichzeitigem Fehlen von Calcium vollkommen aufgehoben ist.
Kurve A: Wiederherstellung der Reaktionsfähigkeit durch Calcium, Kurve B: durch Strontium, Kurve C: durch Magnesium, Kurve D: durch Lithium, sämtlich in äquivalenter Konzentration, Kurve E: isotone Glucoselösung.

Die Ergebnisse dieser Versuche scheinen zunächst eindeutig im Sinne Ringers zu sprechen. Bei Ersatz des Calciums durch eine äquivalente Menge Strontium wurden zwei aufeinanderfolgende Azetylcholingaben von den typischen Stoffwechselreaktionen beantwortet (Abb. 11 B). Strontium vermag also auch hier das Calcium scheinbar zu ersetzen.

Dieser Ersatz ist aber offenbar kein vollkommener. Schon der anfangs hohe, dann aber steil abfallende Ruhestoffwechsel sowie die starke Säurebildung zu Beginn der Versuche könnten ein Hinweis dafür sein, daß das Gewebe unter diesen Bedingungen doch geschädigt wird. Das ist auch sicher so, denn es fällt sofort auf, daß der Stoffwechsel schon nach der ersten Azetylcholingabe fast bis zum Nullpunkt absinkt und daß die Reaktion auf die zweite Dosis schon wesentlich geringer ist. Wir haben deshalb versucht, den Ersatz durch Erhöhung der Strontiumkonzentration vollkommener zu gestalten. Aber das gelang nicht, die Verhältnisse verschlechterten sich sogar. Auch eine Herabsetzung der Strontiumkonzentration brachte keine Besserung. Der Wirkungsunterschied zwischen Calcium und Strontium kann also nicht ein rein quantitativer*, sondern muß auch ein qualitativer sein.

Ganz ähnlich lagen die Dinge beim Magnesium. Auch dieses schien zunächst, wie die Abb. 11 C zeigt, das Calcium ersetzen zu können. Es ergaben sich dann aber genau dieselben Störungen, wie bei den Versuchen mit Strontium in sogar noch verstärktem Maße. Eine Erhöhung der Konzentration brachte

auch hier keine Besserung. Analoge Versuche mit Barium als Ersatz für Calcium waren unter den Versuchsbedingungen nicht möglich, weil die Bariumsalze bei einem p_H von 7.4 in Bicarbonatpuffer zu wenig löslich sind.

Da auch von der Glucose „abdichtende", also calciumähnliche Wirkungen bekannt sind (Literatur siehe 6), haben wir anschließend den Versuch gemacht, ob eine genügend konzentrierte Glucoselösung in der Lage ist, die Erregbarkeit des Speicheldrüsengewebes in calciumfreier Lösung mit zehnfach erhöhtem Kaliumgehalt aufrechtzuerhalten. Wir benutzten dazu eine Lösung, in der das gesamte Natriumchlorid der Locke-Lösung (nicht aber das Natriumbicarbonat) durch Glucose derart ersetzt war, daß die Isotonie gewahrt blieb. Vorher hatten wir uns durch Aschenanalysen davon überzeugt, daß die verwendete Glucose tatsächlich frei von Calcium war. Auch in dieser reichlich unphysiologischen Lösung hatte Azetylcholin eine, wenn auch schwache, so doch deutliche Wirkung auf den Stoffwechsel (Abb. 11 E). Damit scheint die Glucose auch hier bis zu einem gewissen Grade calciumähnlich wirken zu können. Es ist jedoch fraglich, ob dabei nicht noch andere Zusammenhänge mitspielen. —

Wenn die biologische Bedeutung des Calciums nur auf seinen physikalischen Eigenschaften, vor allem also auf seiner Zweiwertigkeit beruht, müßte sich die Gruppe der einwertigen Alkalimetalle wesentlich anders oder gar entgegengesetzt verhalten.

Wir untersuchten deshalb auch diese. Dabei zeigte sich, daß Na, K, Rb und Cs erwartungsgemäß in keinem Falle und in keiner Konzentration in der Lage waren, das Calcium auch nur angedeutet zu ersetzen.

Auffälligerweise gelang dies aber mit Lithium. Die Anordnung war dieselbe, wie in den vorher geschilderten Versuchen mit dem Ersatz des Calciums durch Strontium und Magnesium. In einer Lösung ohne Calcium mit zehnfach erhöhtem Kaliumgehalt, in der Speicheldrüsenschnitte auf Azetylcholinzusatz überhaupt nicht reagieren (Abb. 7 D und 9 D), stellte ein Zusatz von Lithiumchlorid (3,6 mg% Li) die Reaktionsfähigkeit deutlich wieder her (Abb. 11 D): Azetylcholin löste jedesmal die charakteristische Wirkung aus. Das einwertige, sehr kleine Lithium vermag also das zweiwertige Calcium an diesem Objekt ähnlich zu ersetzen, wie es das Strontium oder das Magnesium konnte. Der Ersatz war indessen ebenfalls nur unvollständig und konnte auch durch Erhöhung der Lithiumkonzentration nicht besser gestaltet werden.

Nach diesen Ergebnissen haben wir untersucht, ob Strontium, Magnesium und Lithium in der Lage sind, das Calcium am Speicheldrüsengewebe auch bei Versuchen mit Physostigmin zu ersetzen. Wie oben gezeigt wurde, tritt in calciumfreier Ringerlösung auf Zusatz von Physostigmin

* Unter einem „quantitativen" Wirkungsunterschied ist der Fall verstanden, daß mehrere Substanzen eine Wirkung gleicher Art aber in verschiedener Stärke haben, dies jedoch derart, daß eine Steigerung der Dosis der schwächer wirksamen Substanz zu einem völligen Ausgleich des Wirkungsunterschiedes führt.

schon bei normalem Kaliumgehalt keine Reaktion mehr auf, es war also in diesen Versuchen gar nicht notwendig, den Kaliumgehalt zu steigern. Sie ergaben, daß weder das Strontium, noch das Magnesium oder Lithium in verschiedenen Konzentrationen zu einem Ersatz des Calciums auch nur angedeutet in der Lage waren. Physostigmin blieb in diesen Lösungen stets völlig ohne Wirkung. Ein Ersatz des Calciums durch die anderen genannten Kationen ist also nur bei leichteren Eingriffen und nur bis zu einem gewissen Grade möglich, wie etwa bei der „physiologischen" Wirkung des Azetylcholins. Bei schwereren Eingriffen scheint nur das Calcium allein in der Lage zu sein, das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit zu gewährleisten, es ist also lebensnotwendig und nicht ersetzbar.

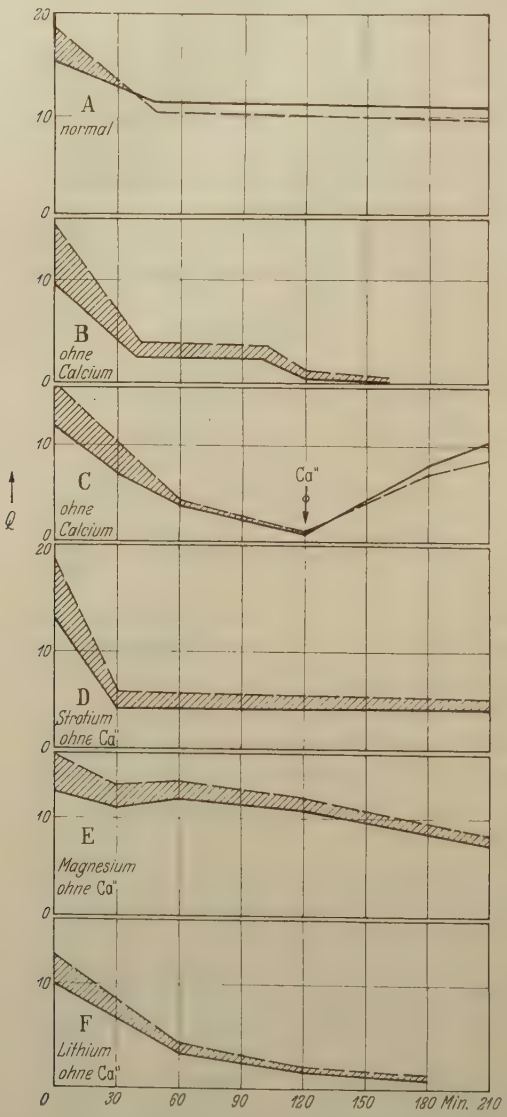


Abb. 12. Die Notwendigkeit des Calciums für das Lebergewebe und seine Ersetzbarkeit durch andere Kationen.

Kurve A: Der Stoffwechselablauf von Rattenleberschnitten in physiologischer Locke-Lösung. Kurve B: Schädigung und Tod des Gewebes bei Fehlen von Calcium. Kurve C: Wiederherstellung des normalen Stoffwechsels durch Zugabe von Calcium. Kurve D: Versuch des Calciumersatzes durch Strontium, Kurve E: Magnesium, Kurve F: Lithium.

c) Versuche am Lebergewebe.

Um in der Beurteilung der Bedeutung des Calciums nicht einseitig zu sein, haben wir weitere Versuche an Gewebsschnitten der Leber (Ratte) gemacht.

Der normale Leberstoffwechsel geht aus Abb. 12 A hervor. Anfangs besteht eine aerobe Säurebildung, die aber schon nach etwa 60 Minuten spontan wieder abklingt. (Schädigung des Gewebes durch die Untersuchungsmethode.) Der Stoffwechsel

sinkt dabei etwas und stellt sich dann auf einen gleichmäßigen reinen Atmungsstoffwechsel ein.

Zunächst haben wir untersucht, wie der Stoffwechsel der Leber sich in einer calciumfreien Lösung verhält. Dabei ergaben sich folgende Resultate. Im Beginn der Versuche war der Stoffwechsel ebenfalls erhöht. Er stellte sich dann aber nicht, wie in normaler Locke-Lösung nach einiger Zeit auf eine gleichbleibende mittlere Höhe ein, sondern stürzte rapide weiter bis an den Nullpunkt ab (Abb. 12 B). Das Lebergewebe geht also bei Fehlen von Calcium zugrunde. Dies Verhalten des Stoffwechsels entspricht ganz dem, was wir bei früheren Versuchen mit Leberschnitten auch in Lösungen ohne Kalium beobachtet haben[7]. Ein wesentlicher Unterschied zwischen der Wirkung des Calcium- und der des Kaliummangels besteht aber im Verhalten der „Glykogenolyse". Während wir bei Abwesenheit von Kalium auch keine aerobe Säurebildung beobachteten, war diese in calciumfreier Lösung sogar wesentlich verstärkt und hielt auch länger an.

Die kausale Bedeutung des Fehlens von Calcium für diese Störungen ergab sich aus dem Nachweis, daß ein (rechtzeitiger) Zusatz von Calcium nicht nur den Tod des Gewebes verhinderte und die Atmung wieder auf die alte Höhe ansteigen ließ, sondern auch die Säurebildung prompt zum Verschwinden brachte (Abb. 12 C). Das Calcium war also auch hier für die Erholung des Gewebes und die Unterdrückung der die „Schädigung" begleitenden Säurebildung von Bedeutung. Weitere Untersuchungen darüber, wieviel Calcium für den normalen Stoffwechselablauf der Leber notwendig ist, ergaben, daß ein Senken des Calciumspiegels um 10—30% noch ohne entscheidenden Einfluß auf den Stoffwechselablauf ist. Eine weitere Verminderung über diese Grenze hinaus führte hier aber zum katastrophalen Absturz des Stoffwechsels. Die Leber ist also gegen Calciummangel viel empfindlicher als die Speicheldrüse.

In unseren früheren Versuchen über die Bedeutung des Kaliums hatten wir gefunden, daß sich der Tod des Gewebes trotz Fehlens von Kalium verhindern ließ, wenn die anfangs bestehende „Glykolyse", für deren Ablauf das Kalium offenkundig erforderlich war, z. B. durch Oxalat rechtzeitig vergiftet wurde. Entsprechende Versuche bei Calciummangel verliefen dagegen negativ. Es war unmöglich, den Absturz des Stoffwechsels durch Oxalatzusatz zu verhindern.

Da die Leber demnach auf das Vorhandensein von Calcium angewiesen ist, haben wir auch an diesem Objekt versucht, das Strontium, Magnesium oder Lithium als Ersatz für das fehlende Calcium zu benutzen.

Das Ergebnis dieser Versuche deckt sich vollkommen mit dem, das wir am Speicheldrüsengewebe gewonnen haben. Strontium und Magnesium vermochten das Calcium wohl bis zu einem gewissen Grade zu ersetzen. Unter diesen Bedingungen sank der Stoffwechsel nicht vollkommen ab, sondern hielt sich über längere Zeit konstant. Dagegen wurde die anfangs bestehende Säurebildung, die in calciumhaltiger Lösung schnell

völlig verschwindet (Abb. 12 C), weder durch Strontium noch durch Magnesium auch nur andeutungsweise gehemmt (Abb. 12 D und 12 E). In dieser Hinsicht hatten beide Erdalkalimetalle ja auch am Speicheldrüsengewebe versagt. Die hemmende Wirkung auf die Säurebildung scheint demnach nur dem Calcium zuzukommen.

Ein Ersatz des Calciums durch Lithium konnte schon das Absinken der Atmung nicht aufhalten (Abb. 12 F). War dagegen eine geringe, für sich noch nicht wirksame Menge Calcium vorhanden, so hatte auch das Lithium eine eindeutig bessernde Wirkung gegenüber den Kontrollen. Somit stehen wir auch in diesem Zusammenhang, ganz ähnlich wie an der Speicheldrüse und wie es auch vom Froschherzen her bekannt ist, vor der Tatsache der Unersetzlichkeit kleiner Mengen Calcium. Mit dieser Frage werden wir uns bei der Besprechung der Versuchsergebnisse noch näher beschäftigen (II. Mitteilung).

d) Der Stoffwechselablauf bei gleichzeitigem Fehlen von Kalium und Calcium.

Anschließend haben wir die Folgen des Calciummangels bei gleichzeitigem Fehlen von Kalium am Stoffwechsel der Speicheldrüse untersucht. Die Nährflüssigkeit enthielt also nur noch Natriumchlorid- und Natriumbicarbonat in isotonischer Lösung unter Zusatz von 200 mg% Glucose.

Obwohl in dieser Lösung beide lebenswichtigen Kationen fehlten, zeigte der Ruhestoffwechsel des Speicheldrüsengewebes gar keine Störungen. Es bestand vielmehr eine kräftige Atmung, die sogar über Stunden konstant blieb und sich in nichts von der normalen Atmung unterschied. Auffälligerweise war meist keine aerobe Säurebildung vorhanden, wie sonst in calciumfreien Lösungen, obwohl das gleichzeitige Fehlen von Kalium das Gewebe doch eher noch stärker schädigen mußte, als das Fehlen von Calcium allein. Das entspricht aber durchaus unseren früheren Befunden, nach denen die Säurebildung nur auftritt, wenn Kalium vorhanden ist. Demgemäß löste in diesen Versuchen ein Zusatz von Kalium dann auch stets eine Säurebildung aus (Abb. 13 A).

Versuche, in der kalium- und calciumfreien Lösung durch Zusatz von Azetylcholin oder Physostigmin eine Stoffwechselsteigerung auszulösen, blieben von Anfang an ohne Erfolg. Die Reaktionsfähigkeit ist also völlig erloschen, während das bloße Überleben, wie wir sahen, trotz Fehlens von Calcium und Kalium offenkundig nicht beeinträchtigt wird. Auch diese Ergebnisse zeigen, daß die Bedingungen für das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit gänzlich andere sein müssen, wie für das bloße Überleben.

Anschließend haben wir versucht, die in der kalium- und calciumfreien Lösung aufgetretenen Ausfallserscheinungen durch Zusatz der fehlenden Ionen wieder zu beheben. Das war möglich. Nach Übertragen

der Gewebsschnitte in normale, also kalium- und calciumhaltige Locke-Lösung kehrte die Erregbarkeit stets vollkommen wieder zurück. Der Aufenthalt in der unphysiologischen Salzlösung hatte also keine nachweisbaren irreversiblen Schäden zur Folge gehabt, das „Leben" an sich nicht beeinträchtigt, sondern nur temporär die Erregbarkeit aufgehoben.

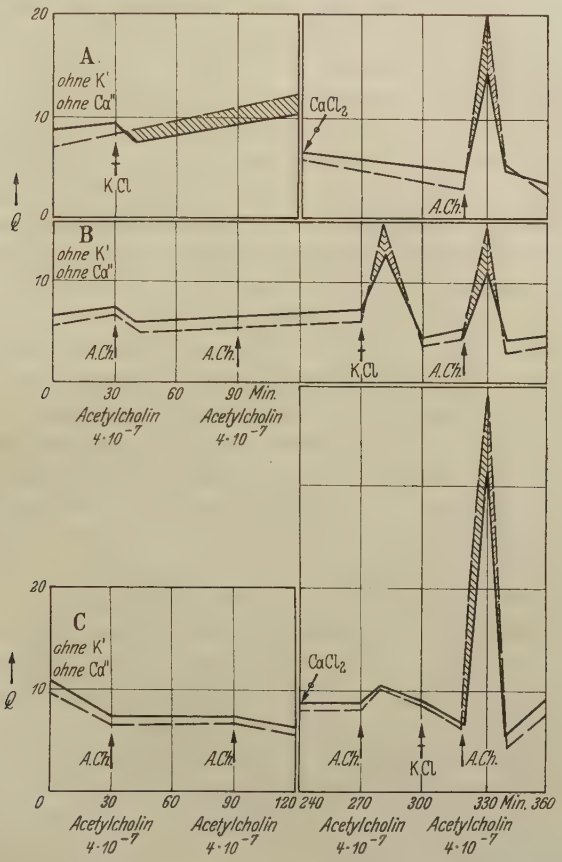


Abb. 13. Die Wirkung der Wiederzugabe von Kalium und von Calcium auf den Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit von Speicheldrüsengewebe in einer reinen Natriumsalzlösung.

Kurve A: Zusatz von Kalium löst eine Säurebildung aus, die auf Zusatz von Calcium wieder verschwindet. Wiederherstellung der Reaktionsfähigkeit. Kurve B: In der reinen Natriumsalzlösung reagiert das Gewebe nicht auf Azetylcholin. Zusatz von Kalium löst eine Säurebildung und Stoffwechselsteigerung aus, stellt die Reaktionsfähigkeit wieder her. Kurve C: Zusatz von Calcium allein stellt die Reaktionsfähigkeit nicht wieder her, dies ist erst nach Zusatz von Kalium der Fall. Bei Anwesenheit von Calcium verursacht der Zusatz von Kalium keine Säurebildung.

Wir konnten deshalb auch die Frage prüfen, inwieweit eine Wiederherstellung der Erregbarkeit durch Zusatz nur eines der beiden Kationen möglich ist. Solche Versuche würden zugleich eine wertvolle Ergänzung unserer früheren Befunde über die Bedeutung des Kaliums und Calciums bringen können.

Zunächst haben wir das Kalium angewendet. Wurde die physiologische Konzentration Kalium den in der reinen Natriumsalzlösung suspendierten Speicheldrüsenschnitten wieder zugesetzt, so trat schon im Ruhestoffwechsel eine höchst auffällige Änderung ein. Es begann nämlich unmittelbar nach der Zugabe des Kaliums eine kräftige und anhaltende Säurebildung (Abb. 13 A). Das ist eine sehr klare weitere Bestätigung für unsere früheren Befunde, nach denen das Kalium für diese Art der Säurebildung (Glykogenolyse) notwendig ist.

Dann haben wir die „Erregbarkeit" des Speicheldrüsengewebes in dieser Versuchsanordnung vor und nach Kaliumzusatz untersucht. Zunächst überzeugten wir uns nochmals davon (Abb. 13 B), daß in der reinen Natriumsalzlösung auf wiederholte Dosen Azetylcholin in keinem Falle eine Reaktion erfolgte. Wurde nun, also nach vorangegangenem Azetylcholinzusatz allein Kalium zugesetzt, so trat in den meisten Fällen nicht nur eine Säurebildung auf, wie in den oben geschilderten Fällen, sondern auch eine Stoffwechselsteigerung, also grundsätzlich dieselbe Reaktion, die wir sonst nach Zusatz von Azetylcholin beobachteten (Abb. 13 B), und zwar auch dann, wenn die Schnitte vorher in eine azetylcholinfreie Lösung übertragen waren. Das Gewebe reagiert auf den Kaliumzusatz also anders, je nachdem ob vorher Azetylcholin eingewirkt hatte oder nicht. Solche Wirkungen des Kaliums hatten wir auch in früheren Versuchen[9] schon gesehen. Nach Wiederherstellung des physiologischen Kaliumgehaltes hatte dann ein Zusatz von Azetylcholin trotz Fehlens des Calciums wieder die charakteristische Wirkung auf den Stoffwechsel, wenn auch die Höhe des Ausschlages etwas schwächer war als unter normalen Bedingungen (Abb. 13 B). Demnach scheint für die Wiederherstellung der „Erregbarkeit" an sich nur das Kalium notwendig zu sein. Indessen werden auch hier die geringen, im Gewebe noch haftenden Mengen Calcium eine Rolle spielen.

In ganz entsprechend angeordneten Versuchen setzten wir dann zuerst nur Calcium zu. (Methodisch ist dabei zu beachten, daß durch das Einkippen einer $CaCl_2$-Lösung etwas CO_2 aus der bicarbonathaltigen Locke-Lösung ausgetrieben wird, weil Calciumchloridlösungen sauer sind. Diese CO_2-Freisetzung ist aber spätestens nach 30 Minuten beendet, so daß von diesem Zeitpunkt ab die Stoffwechselmessung wieder reelle Werte gibt.) Die Zugabe von Calcium allein beeinflußte – im Gegensatz zum Kalium — den Grundstoffwechsel praktisch überhaupt nicht (Abb. 13 C), vor allem trat nie eine Säurebildung auf; wo eine solche vorher bestand, verschwand sie sogar. Wir haben dann versucht, nach Zugabe von Calcium durch Azetylcholin eine Stoffwechselreaktion auszulösen. Das gelang jedoch nicht, sondern wurde erst wieder möglich, als auch noch das fehlende Kalium zugegeben wurde (Abb. 13 C). Calcium allein vermag also die Erregbarkeit nicht wiederherzustellen. Bei diesen Kurven fällt auf, daß der Zusatz von Kalium bei Anwesenheit von Calcium keine Säurebildung

auslöste, während dies bei den Versuchen in calciumfreier Lösung stets der Fall war. Calcium hemmt also die Säurebildung, während Kalium sie ermöglicht.

II. Die Bedeutung des Natriums.

Bei unseren bisherigen Untersuchungen hatte uns die Messung des Gewebsstoffwechsels als Methode recht weite und neuartige Einblicke in die biologische Bedeutung des Kaliums und Calciums ermöglicht. Wir hatten deshalb die Hoffnung, durch Anwendung der gleichen Methode vielleicht auch die etwas schwierige Frage der Bedeutung des Natriums angehen zu können. Dabei war vor allem zu klären, ob die Anwesenheit von Natriumsalzen lediglich für die Aufrechterhaltung der Isotonie und des Ladungsgleichgewichtes erforderlich ist, oder ob dem Natriumion darüber hinaus auch eine besondere Bedeutung zukommt. Wenn das erste der Fall wäre, so müßte das Natrium ohne weiteres durch jedes andere indifferente Kation oder gar durch Nichtelektrolyte zu ersetzen sein, sofern die Lösung nur isoton ist.

Solche Versuche haben wir angestellt. Hierbei wurde das Natriumchlorid gegen verschiedene andere Substanzen ausgetauscht, die übrigen Ionen blieben konstant. Die notwendige Bicarbonatkonzentration stellten wir in allen Fällen durch Anwendung von Kaliumbicarbonat her. Damit war entsprechend der Bicarbonatkonzentration unserer Versuchslösungen zwar eine Erhöhung des Kaliumgehaltes auf das Acht- bis Zehnfache unvermeidlich. Dies störte jedoch nicht, da ein erhöhter Kaliumgehalt bei der gleichzeitigen Anwesenheit von Calcium die Erregbarkeit nicht herabsetzt, wie wir bereits gezeigt haben.

a) Ersatz des Natriums durch andere Kationen.

Zuerst wurden Versuche mit Lösungen gemacht, in denen das Natriumchlorid durch andere Alkalichloride in isotonischer Konzentration ersetzt war. Zur Anwendung kam zunächst das Lithium.

Der „Ruhestoffwechsel" verlief unter diesen Bedingungen, also bei völligem Fehlen von Natrium, allem Anschein nach ungestört, lag jedoch auffällig niedrig. Wurde nun aber Azetylcholin oder Physostigmin angewendet, so zeigte sich, daß die Reaktionsfähigkeit trotz Anwesenheit von Kalium und Calcium vollkommen erloschen war (Abb. 14 A). Die Dinge liegen hier also ganz anders wie am Froschmuskel, bei dem ein völliger Ersatz des Natriums durch Lithium möglich war [17].

Entsprechende Versuche, das Natrium durch Caesium, Rubidium oder Kalium zu ersetzen, verliefen ebenso völlig negativ. Das Natrium ist also für die Reaktionsfähigkeit der Speicheldrüse unbedingt nötig und durch kein anderes einwertiges Kation ersetzbar.

[17] Overton, E.: Pflügers Arch. **92**, 346 (1902).

Nach diesem wichtigen Ergebnis haben wir uns bemüht, jene Natriumkonzentration zu finden, die noch eine Reaktion auf Azetylcholin ermöglicht. Zu diesem Zwecke wurden Versuche unternommen, in denen wir von der Lithium-Salzlösung ausgehend steigende Mengen Lithiumchlorid wieder durch Natriumchlorid ersetzten.

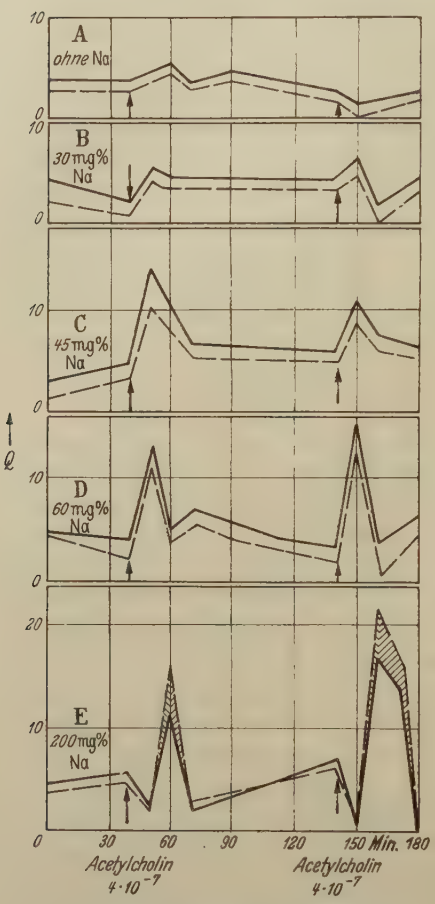


Abb. 14. Die Bedeutung des Natriums für den Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes.
Bestimmung der Mindestmenge Natrium, die für das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit notwendig ist. Kurve A: Vollständiger Ersatz des Natriums in der Locke-Lösung durch Lithium. Kurve B: Lithium-Locke-Lösung mit 30 mg% Natrium. Kurve C: Dasselbe mit 45 mg%, Kurve D: mit 60 mg% und Kurve E: mit 200 mg% Natrium.

Zusatz kleinster Mengen Natriumchlorid (bis zu 30 mg% Na) vermochten die Reaktionsfähigkeit nicht wiederherzustellen (Abb. 14 B). Erst bei einem Natriumgehalt von 45 mg% in der Suspensionslösung trat auf Zusatz von Azetylcholin eine mäßige, bei 60 mg% eine kräftige Atmungssteigerung um etwa 100 bis 300% wieder ein, war also die Erregbarkeit wiederhergestellt (Abb. 14 C und 14 D).

Die sonst für den Erregungsstoffwechsel charakteristische Säurebildung blieb jedoch in allen Versuchen aus. Erst bei Erhöhung des Natriumgehaltes auf 200 mg% und entsprechendem Senken der Lithiumkonzentration auf 25,5 mg% Li, trat auch die Säurebildung unter der Azetylcholinwirkung wieder auf. Lithium scheint demnach die Säurebildung hemmen zu können, also auch in diesen Versuchen mehr calciumähnlich zu wirken, wie wir das auch in den früheren Versuchen schon gefunden haben. Um diese Frage weiter aufzuklären, untersuchten wir sie noch von einer anderen Seite her.

Bei den oben geschilderten früheren Versuchen fanden wir oft, daß bei Anwesenheit von Kalium aber Fehlen von Calcium eine Säurebildung bestand (Abb. 1—13), die durch Zugabe von Calcium beseitigt werden konnte. Wenn das Lithium in dieser Hinsicht ähnliche Wirkungen haben sollte wie das Calcium, so müßte es auch ebenso in der Lage sein, die

Glykolyse zu verhindern. Das ließ sich auch in folgendem Versuch an Speicheldrüsengewebe sehr schön zeigen. In einer reinen Natriumchlorid-Bicarbonatlösung, in der also kein Calcium enthalten war, trat auf Zusatz der physiologischen Kaliumkonzentration stets eine kräftige Säurebildung ein. Enthielt die Lösung dagegen Lithiumchlorid, so war bei Zusatz von Kalium trotz Fehlens von Calcium keine Säurebildung zu beobachten (Abb. 15), der Stoffwechsel blieb ebenso unbeeinflußt, wie wenn die Lösung an Stelle von Lithium Calcium enthielte. Lithium wirkte also auch unter diesen Versuchsbedingungen calciumähnlich. Das ist um so auffälliger, als Strontium und Magnesium, wie wir sahen, diese Wirkung auf die Säurebildung nicht hatten.

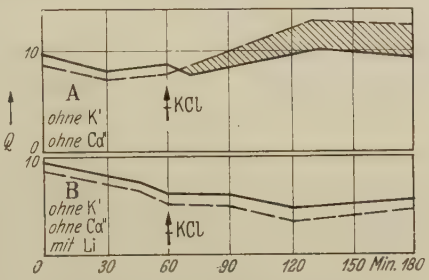


Abb. 15. Die Wirkung des Zusatzes von Kalium auf den Stoffwechsel von Speicheldrüsengewebe in einer calciumfreien Natriumsalzlösung (Kurve A) und Lithiumsalzlösung (Kurve B).

b) Der Ersatz des Natriums durch Glucose.

In weiteren Versuchen verwendeten wir zur Herstellung einer isotonen Lösung die Glucose. Dabei verfuhren wir so, daß steigende Mengen Natriumchlorid durch eine isotone (5,6%ige) Glucoselösung ersetzt, Kalium und Calcium sowie das Bicarbonat aber konstant gehalten wurden. Das Ergebnis entspricht dem der Ersatzversuche mit Lithium. Selbst nach Senken des Natriumgehaltes von 350 mg% auf 60 mg% und Steigern der Zuckerkonzentration in der Suspensionsflüssigkeit auf etwa 4% (!) blieb sogar die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes noch durchaus erhalten (Abb. 16 C).

Immerhin fällt an den Kurven auf, daß mit zunehmender Glucosekonzentration auch im Ruhestoffwechsel eine zunehmende Säurebildung in Erscheinung trat. Diese verstärkte sich auf Azetylcholinzusatz zwar etwas, ohne jedoch die in physiologischen Salzlösungen zu beobachtenden Werte zu überschreiten, wie man es bei dem vermehrten Glucoseangebot hätte erwarten können. Diese Beobachtung zeigt, daß die Glucosekonzentration nicht den begrenzenden Faktor für die Geschwindigkeit der Säurebildung beim „Erregungsstoffwechsel" darstellen kann[6].

Wurde nun in den weiteren Versuchen das gesamte Natriumchlorid durch eine äquivalente Menge Glucose ersetzt, so ergab sich das gleiche Bild, wie beim vollständigen Ersatz des Natriums durch Lithium. Die Reaktionsfähigkeit wurde völlig aufgehoben. Dies konnte nicht an der weiteren Erhöhung der Glucosekonzentration von 4 auf 5% liegen, sondern mußte auf das völlige Fehlen des Natriums bezogen werden. Danach blieb nur noch die Aufgabe, auch unter diesen Bedingungen die „Schwellen-

konzentration" des Natrium genauer zu bestimmen. die für die Aufrechterhaltung der Erregbarkeit notwendig ist. Das geschah dadurch. daß

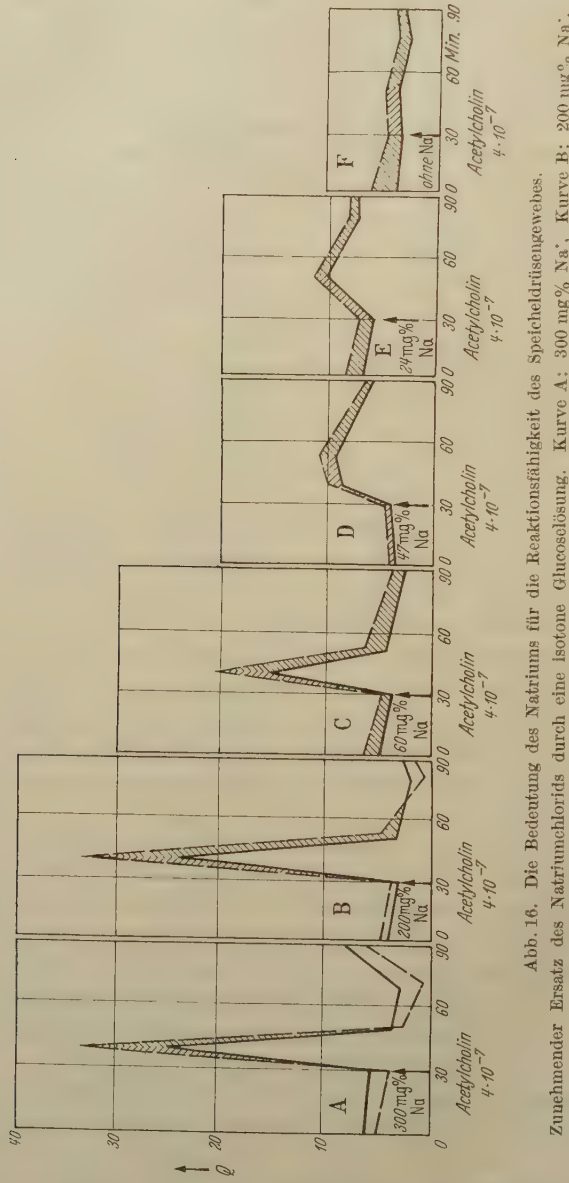


Abb. 16. Die Bedeutung des Natriums für die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes. Zunehmender Ersatz des Natriumchlorids durch eine isotone Glucoselösung. Kurve A: 300 mg% Na', Kurve B: 200 mg% Na', Kurve C: 60 mg % Na', Kurve D: 47 mg% Na', Kurve E: 24 mg% Na', Kurve F: ohne Natrium.

wir in einer Reihe von Versuchen der isotonen Glucoselösung (mit Kaliumbicarbonat und Calciumchlorid) zunehmende Mengen einer isotonen Natriumchloridlösung wieder zusetzten. Dabei ergab sich wieder eine

ziemlich scharfe Grenze, die etwa bei 60 mg% $Na^{\cdot}$ lag. Unterhalb dieses „Schwellenwertes" reagierte das Gewebe auf wiederholte Azetylcholingaben nicht mehr (Abb. 16 E). Es traten vielmehr nur in einigen Fällen geringe und auffallend träge verlaufende Stoffwechselsteigerungen ein. Bei 60 mg% Natrium sahen wir stets kräftige Reaktionen von normalem Ausmaß.

Die hier gefundene „Schwellenkonzentration" für das Natrium stimmt genau mit dem Wert überein, der sich bei den Versuchen mit Lithium ergeben hatte, obwohl die Milieubedingungen in beiden Fällen außerordentlich verschieden waren. Es läßt sich also feststellen, daß das Natrium in einer Mindestkonzentration von 45–60 mg% für die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes notwendig ist, und daß es in diesem Bereich durch kein anderes Kation ersetzbar ist. Demnach müssen wir annehmen, daß das Natrium über seine osmotischen Wirkungen hinaus noch eigene spezielle Wirkungen hat.

Die Tatsache, daß das Natriumchlorid zu mehr als 80% durch eine isotone Glucoselösung, also ein starker Elektrolyt auch durch einen Nichtelektrolyten ersetzt werden konnte, ohne die Reaktionsfähigkeit des Gewebes aufzuheben, sofern nur die Isotonie gewahrt blieb, deutet darauf hin, daß die Notwendigkeit der Hauptmenge des Natriumchlorids im Blut und in den Gewebsflüssigkeiten nicht auf speziellen Ionen-Wirkungen beruht, sondern vor allem der Erhaltung der Isotonie dient. Entscheidend ist also die Konzentration der gelösten Teilchen, anscheinend unabhängig davon, ob sie eine Ladung besitzen oder nicht, soweit wenigstens die Elektroneutralität erhalten bleibt. Darauf werden wir in der II. Mitteilung zurückkommen.

B. Die Bedeutung der Anionen.

I. Die Ersetzbarkeit des Chlorids.

In den bisher geschilderten Versuchen haben wir uns einseitig mit der Bedeutung der Kationen befaßt und die vorhandenen Anionen gänzlich unberücksichtigt gelassen. Das war möglich, weil in den meisten Fällen die beiden vorliegenden Anionen Cl' und HCO_3' keinen Änderungen unterlagen. Erst mit dem weitgehenden Ersatz des Natriumchlorids durch Glucose sahen wir uns vor die Frage gestellt, ob nicht wenigstens ein Teil der beobachteten Ausfallserscheinungen auch auf die Verringerung des Chloridgehaltes zurückzuführen sein. Die völlige Übereinstimmung der Ergebnisse beim Ersatz des Natriumchlorids einmal durch Lithiumchlorid (wobei der Chloridgehalt unverändert blieb) und zum anderen durch Glucose (wobei der Chloridgehalt um 98% herabgesetzt war) sprach zwar dagegen. Dennoch prüften wir diese Möglichkeit noch etwas eingehender, um damit ganz allgemein die Frage nach der Bedeutung der Anionen für die Speicheldrüse aufzuwerten.

Wir gingen zunächst wieder von einer isotonen Glucoselösung aus, die für diese Versuche eine ausreichende Menge von Natrium, Kalium und Calcium als Bicarbonat enthielt, aber völlig frei von Chlorid war.

Das Ergebnis dieser Versuche war eindeutig. Das völlige Fehlen der Chloridionen verursachte keine Beeinträchtigung des Stoffwechselablaufs. Das Gewebe reagierte auch auf wiederholte Gaben von Azetylcholin in der charakteristischen Weise (Abb. 17 A).

Dieser Befund wurde durch weitere Versuche gestützt, in denen wir, nicht mehr von der Glucose-Salzlösung, sondern von der normalen Ringerlösung ausgehend, das einwertige Chlorid durch das zweiwertige Sulfat-Ion ersetzten, ohne die Konzentration der übrigen Ionen zu ändern. Auch in dieser Lösung war die Reaktionsfähigkeit trotz des völligen Fehlens von Chlorid erhalten geblieben. Auffällig war jedoch eine langdauernde und starke Säurebildung sowohl im Ruhe- als auch im Erregungsstoffwechsel (Abb. 17 B).

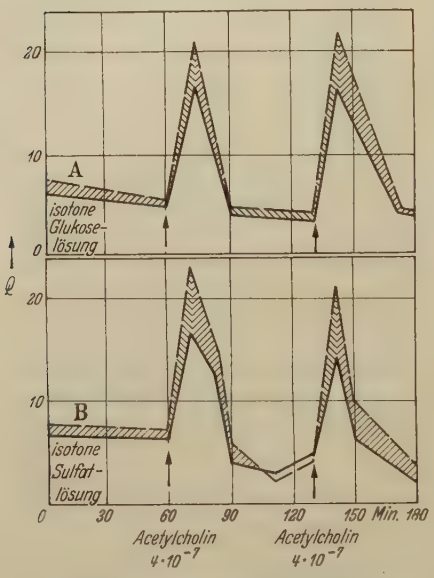


Abb. 17. Der Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit von Speicheldrüsengewebe bei Fehlen von Chlorid.
Kurve A: in isotoner Glucose-Locke-Lösung,
Kurve B: in isotoner Sulfat-Locke-Lösung.

II. Die Bedeutung des Bicarbonats und der Wasserstoffionenkonzentration.

Nach der allgemein in der Literatur vertretenen Auffassung soll das Leben an die strenge Einhaltung der physiologischen Wasserstoffionenkonzentration im ganzen Organismus gebunden sein. Das wird meist ohne weitere Prüfung allein aus der Tatsache gefolgert, daß das p_H des Blutes mit bemerkenswerter Konstanz aufrechterhalten wird. Ähnlich lagen die Dinge ja auch bei der „Isoionie", der Konstanz der ionalen Verhältnisse, deren Einhaltung ebenfalls nur auf Grund von Beobachtungen am Blut ohne weiteres als lebensnotwendig für alle Zellen behauptet wurde, ohne daß wir in unseren Versuchen an isolierten Geweben tatsächlich immer eine Bindung an so enge Grenzen finden konnten. Im Gegenteil haben wir hinsichtlich der Kalium-Calcium- und Natriumkonzentrationen gezeigt, daß Gewebe trotz recht bedeutsamer Änderungen sogar über fast eine ganze Größenordnung einen durchaus normalen Stoffwechsel und eine normale Erregbarkeit behalten können. Da wir außerdem eine ganze Reihe von Zuständen kennengelernt haben, unter denen Gewebe zum Teil

recht beträchtliche Mengen schwer diffusibler Säuren bilden, schien es uns zweifelhaft, daß das Leben und die Reaktionsfähigkeit von Geweben hinsichtlich der Wasserstoffionenkonzentration so eng an einen bestimmten Wert gebunden sein soll.

Wir stellten deswegen orientierende Versuche hierüber an. Dabei wurde das p_H nur durch Variieren der Bicarbonatkonzentration, und zwar zuerst vom physiologischen Wert 7,4 nach der sauren Seite hin verändert. Es ergab sich, daß das Speicheldrüsengewebe auch bei einem p_H von 7,1 (gemessen mit der Chinhydronelektrode) noch durchaus reaktionsfähig war (Abb. 18 B). Bei einem p_H von 6,8, also einer Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration auf das Vierfache, traten dann jedoch bereits Störungen auf, die, wie wir es früher auch schon bei anderen Milieuänderungen sahen, zunächst nur die Reaktion des Gewebes auf eine wiederholte Azetylcholingabe betrafen (Abb. 18 C). Bei einem p_H von 6,5 (berechnet und gemessen) (Abb. 18 D) war dann die Reaktionsfähigkeit schon von Anfang an stark beeinträchtigt, bis sie schließlich bei einer Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration über das Zehnfache hinaus, nämlich bei einem p_H von 6,3 ganz aufhörte

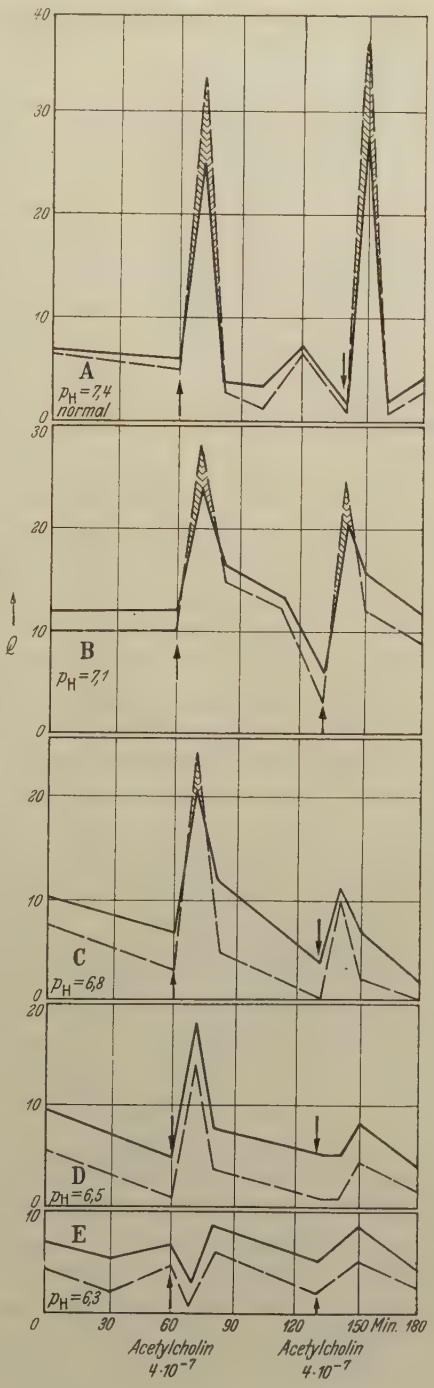


Abb. 18. Der Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit von Speicheldrüsengewebe in Locke-Lösungen mit steigender Wasserstoffionenkonzentration.

Kurve A: p_H 7,4, $NaHCO_3$ = 2,5 . 10^{-2} m;
Kurve B: p_H 7,1, $NaHCO_3$ = 1 . 10^{-2} m;
Kurve C: p_H 6,8, $NaHCO_3$ = 5 . 10^{-3} m;
Kurve D: p_H 6,5, $NaHCO_3$ = 2,5 . 10^{-3} m;
Kurve E: p_H 6,3, $NaHCO_3$ = 1,3 . 10^{-3} m.

(Abb. 18 E). Die Reaktionsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes ist also gegenüber Änderungen der „physiologischen" Wasserstoffionenkonzentration einigermaßen resistent. Das zeigte sich übrigens auch bei weiteren Versuchen, in denen wir* die CO_2-Konzentration heraufsetzten. Selbst unter 15 Vol.% CO_2 bei normalem Bicarbonatgehalt (p_H etwa 7) reagierte das Speicheldrüsengewebe auf Zusatz von Azetylcholin in der üblichen Weise.

Wenn damit das Speicheldrüsengewebe gegen eine Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration über den „physiologischen" Wert von p_H 7,4 hinaus noch recht unempfindlich zu sein scheint, ist es besonders auffällig, daß sich demgegenüber bei der geringsten Überschreitung des Neutralpunktes, der bei 37° bekanntlich um p_H 6,8 liegt, schon schwere Störungen zeigten. Bereits am Neutralpunkt selbst traten unverkennbare Ausfallserscheinungen auf. Die Erregbarkeit scheint also eine schwach alkalische Reaktion zur Voraussetzung zu haben. Diese enorme Empfindlichkeit der Erregbarkeit gegen Säure muß biologisch von höchster Bedeutung sein, weil beim Erregungsstoffwechsel selbst „fixe Säuren" gebildet werden. Eine genügend anhaltende oder starke Säurebildung kann auf diese Weise zu einer „Ruhigstellung" des arbeitenden Gewebes führen und mag so am Vorgang der Ermüdung oder Erschöpfung beteiligt sein. Das gleiche wird auch für das „geschädigte" oder „kranke" Gewebe zutreffen, denn wir sahen, daß unter diesen Bedingungen eine sogar besonders starke und anhaltende Säurebildung auftritt.

Diese Zusammenhänge verdienen um so mehr Beachtung, als nicht nur die Reaktionsfähigkeit des Gewebes, sondern auch die durch Azetylcholin ausgelöste Säurebildung selbst in dieser Hinsicht offenkundig höchst empfindlich ist. Wie die Abb. 18 zeigt, trat schon bei p_H 6,8, also schon beim Neutralpunkt keine Säurebildung auf einen wiederholten Azetylcholinzusatz mehr auf. Auch die Kohlensäurebildung im Ruhestoffwechsel wurde unter diesen Bedingungen stark gehemmt, der respiratorische Quotient sank auf Werte bis 0,5! Die gesamte Bildung saurer Stoffwechselprodukte ist danach gegen eine Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration bis zum Neutralpunkt so empfindlich, daß auf diese Weise auch eine entscheidende Selbststeuerung des Stoffwechsels möglich erscheint.

Der gegenteilige Eingriff, die Steigerung der Bicarbonatkonzentration und die damit verbundene Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration wurde dagegen vom Gewebe in jeder Hinsicht gut vertragen. Der Ruhe- und Erregungsstoffwechsel verhielten sich noch bei einem p_H von 8.1, also bei einer Zunahme der OH-Ionenkonzentration auf den vierfachen Wert völlig normal. Stärkere Alkalitätsgrade konnten nicht angewandt werden, weil sonst das Calcium als Carbonat ausfällt.

---

* Hermann Druckrey u. Rudolf Richter: Unveröffentlichte Versuche.

C. Die Bedeutung der osmotischen Wirkung.

Wir hatten gezeigt, daß der Stoffwechsel des Gewebes nach Reizung oder Schädigung sich vom „Ruhestoffwechsel" vor allem dadurch unterscheidet, daß Spaltprozesse auftreten, deren Endprodukte „fixe Säuren" sind. Damit nimmt der Ionenbestand im Gewebe entsprechend zu, der osmotische Druck muß ansteigen, zumal die entstehenden Säuren schwer diffusibel sind. Diese Überlegungen veranlaßten uns, zu untersuchen, welche Störungen des Gewebsstoffwechsels sich bei rein quantitativen Änderungen der Ionenkonzentration der Ringerlösung ergeben, also bei Hypertonie und Hypotonie.

I. Hypertonie.

Speicheldrüsenschnitte wurden in hypertonen Lösungen verschiedener Konzentration untersucht. Dabei gingen wir so vor, daß wir unter Konstanthaltung der Konzentration der übrigen Ionen nur die Konzentration des Natriumchlorids steigerten, und zwar um 5, 10, 20 und 30%. Die Ergebnisse gehen aus der Abb. 19 hervor.

Die Atmung war unter diesen Bedingungen schon zu Beginn des Versuchs beträchtlich über die Norm erhöht, und zwar um so mehr, je

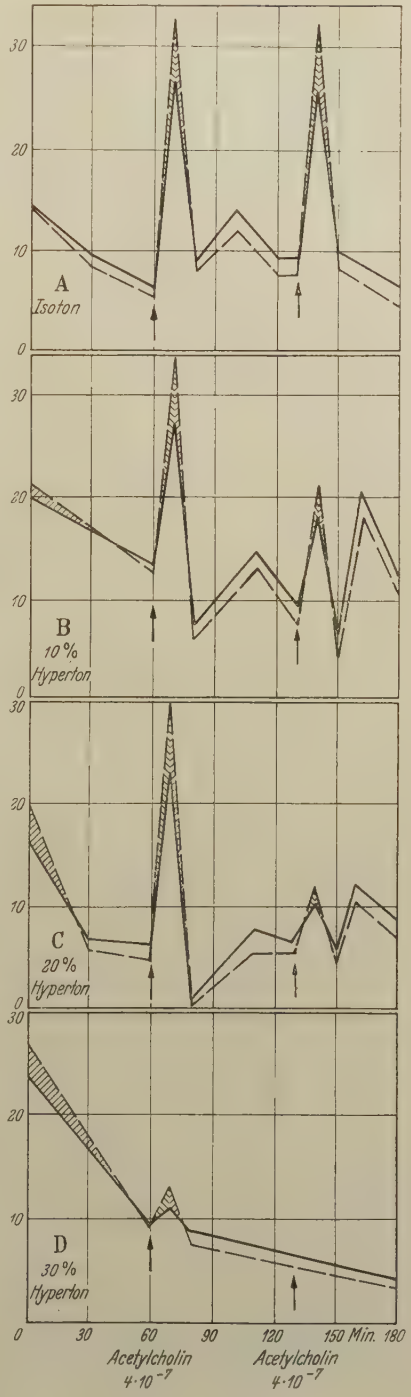


Abb. 19. Die Wirkung der Hypertonie auf den Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit von Speicheldrüsengewebe.

Kurve A: isoton, Kurve B: 10% hyperton, Kurve C: 20% hyperton, Kurve D: 30% hyperton.

stärkere Hypertoniegrade zur Anwendung kamen. In den stärker hypertonen Lösungen war ferner stets eine deutliche Säurebildung (Glykolyse) im Beginn des Versuchs zu beobachten (Abb. 19). Die unphysiologischen Bedingungen haben hier also zu jenen Stoffwechseländerungen geführt, die wir ganz allgemein als „Schädigungsstoffwechsel" bezeichnen konnten [3]. Dieser pathologische Stoffwechsel nähert sich aber — wie wir das auch schon in den früheren Versuchen gesehen haben (Abb. 3, 4, 5, 7, 9, 11 und 12) - bald wieder der Norm, das Gewebe vermag sich also allem Anschein nach an die veränderte Umwelt „anzupassen" *.

Wurde nur durch Zusatz von Azetylcholin ein „physiologischer" Reiz gesetzt, so zeigte das Speicheldrüsengewebe in einer um 5 bis 20% hypertonen Lösung zwar zunächst noch eine durchaus normale Reaktionsfähigkeit, bei Wiederholung des Reizes ergaben sich dagegen schon bei dieser verhältnismäßig geringen Milieuänderung beträchtliche Störungen. Nur im Versuch mit der um 5% erhöhten Salzkonzentration glich die zweite Reaktion noch der ersten, war also eine vollkommene Wiederherstellung der Erregbarkeit nach dem ersten Reiz (Erholung) eingetreten. Schon bei 10% Hypertonie war das nur noch in sehr beschränktem Umfange, bei 20% fast gar nicht mehr der Fall. Die Reaktionsfähigkeit des Gewebes ist also gegen hypertone Lösungen ganz besonders empfindlich. Auch hier wurde wieder die Fähigkeit des Gewebes, sich nach einem vorangegangenen Reiz zu erholen, am stärksten beeinträchtigt.

In der um 30% hypertonen Lösung sank der Stoffwechsel nach anfänglich exzessiv hohen Werten schnell katastrophal ab. Hier hatte schon die erste Reizung kaum noch eine Wirkung, der Stoffwechsel nahm weiter ab (Abb. 19).

Diese hochgradige Empfindlichkeit des Gewebes gerade gegen eine Zunahme des osmotischen Druckes, also gegen die Milieuänderung, die durch eine „Säurebildung" nach physiologischen oder pathologischen Reizen vom Gewebe selbst geschaffen wird, ist außerordentlich auffallend. Dies um so mehr, als alle unsere bisherigen Versuche mit verändertem Kalium-, Calcium-, Natrium,- Chlorid-, Sulfat-, Glucosegehalt oder mit unphysiologischer Wasserstoffionenkonzentration eine beträchtliche Resistenz des Gewebes auch gegen sehr weitgehende Änderungen dieser Art ergeben hatten.

Im Anschluß daran untersuchten wir, ob nach einer schweren Schädigung durch stärkere Hypertoniegrade (30, 60 und 100%) noch eine Erholung eintreten kann, wenn das Gewebe nach 1 Stunde wieder in eine normale Lösung übertragen wurde. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 20 wiedergegeben. In allen Ansätzen war unter dem schädigenden Einfluß der Hypertonie eine aerobe Säurebildung („Glykolyse") fest-

* Diese Fähigkeit der „Anpassung" konnten wir an den verschiedensten Zell- und Gewebsarten und unter den verschiedensten Bedingungen immer wieder als ein charakteristisches Merkmal der lebenden Substanz beobachten.

zustellen, deren Ausmaß dem Grad der angewendeten Hypertonie entsprach (Abb. 20, erster Kurventeil). Nach Überführung der Schnitte in die normale Locke-Lösung (Abb. 20, zweiter Kurventeil) trat dann in allen Fällen eine mehr oder weniger vollständige Erholung ein, auch die Glykolyse ver-

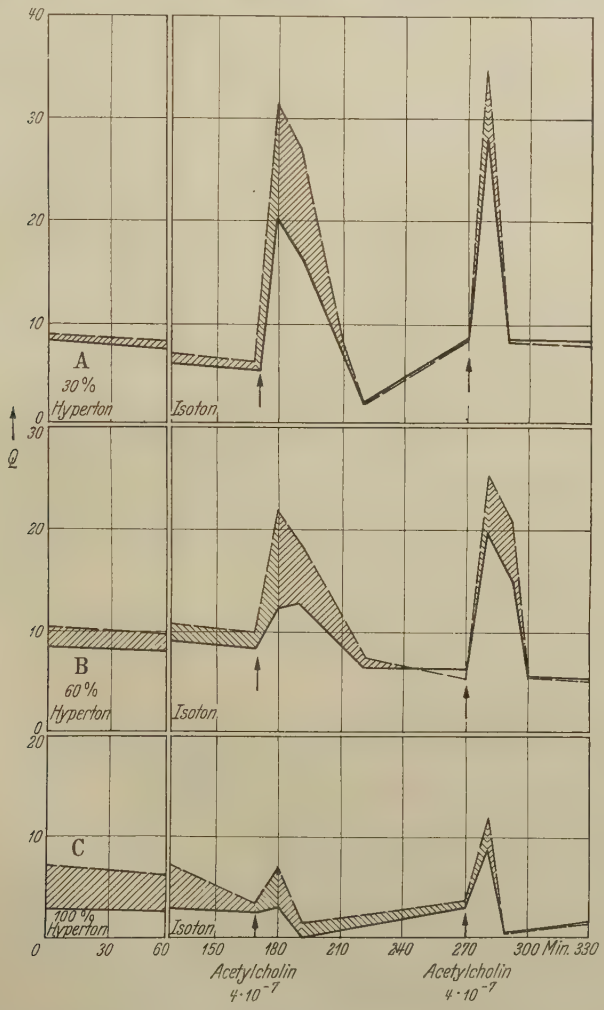


Abb. 20. Erholungsfähigkeit des Speicheldrüsengewebes nach Vorbehandlung mit verschieden stark hypertonen Lösungen.

Linker Kurventeil: hypertone, rechter Kurventeil: isotone Lösung. Kurve A: 30%, Kurve B: 60% und Kurve C: 100% Hypertonie-Vorbehandlung.

schwand nach einiger Zeit wieder. Die Schnitte, die vorher in einer um 30% hypertonen Lösung gehalten waren, reagierten nun auf einen Zusatz von Azetylcholin wieder mit dem charakteristischen Stoffwechsel-

anstieg (Abb. 20 A). Auch nach Vorbehandlung mit einer um 60% hypertonen Lösung stellte sich die Reaktionsfähigkeit in normaler Locke-Lösung nach einiger Zeit noch fast vollständig wieder her (Abb. 20 B). Erst bei Steigerung des Hypertoniegrades bei der Vorbehandlung auf 100% war die Erholung nach Übertragung in die physiologische Lösung deutlich

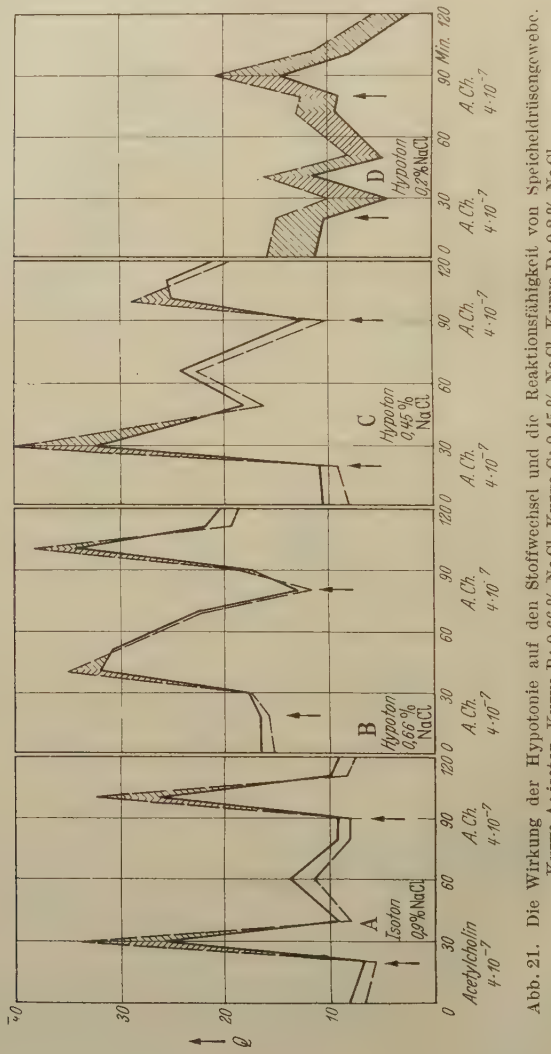


Abb. 21. Die Wirkung der Hypotonie auf den Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit von Speicheldrüsengewebe. Kurve A: isoton, Kurve B: 0,66 % NaCl, Kurve C: 0,45 % NaCl, Kurve D: 0,2 % NaCl.

unvollständig, auf Zusatz von Azetylcholin trat nur noch eine ganz geringe Reaktion ein (Abb. 20 C). Die Glykolyse erreichte hier eine relativ beträchtliche Höhe und hielt lange an, die Atmung lag nur wenig über Null, das Gewebe war also schwer geschädigt. Immerhin scheint auch hier mit der Zeit eine zunehmende Erholung einzutreten („Anpassung").

II. Hypotonie.

Anschließend prüften wir in gleicher Weise den Einfluß der Hypotonie. Diese wurde durch Verminderung des Natriumchloridgehaltes auf 75, 50 und 25% des normalen Gehaltes bei Konstanz der übrigen Ionen erreicht. Die Ergebnisse sind in der Abb. 21 wiedergegeben. Sie zeigen, daß die „Anpassungsfähigkeit" des Gewebes an hypotone Lösungen wesentlich größer ist, als es bei den hypertonen Lösungen zu beobachten war. Bei einer Verminderung der osmotisch wirksamen Bestandteile um 25% war noch keine Beeinträchtigung nachweisbar (Abb. 21 B). Nach weiterer Senkung des Salzgehaltes auf 50% des Normalen begann die eintretende Schädigung sich wieder zuerst in der geringeren Reaktion auf den zweiten Reiz auszudrücken. Die Beeinträchtigung der Erholungsfähigkeit ist also auch hier das empfindlichste Kriterium für die eingetretene Schädigung. (Abb. 21 C) Bei einer Senkung des Salzgehaltes um 75%, also bei einer Konzentration bei der die Erythrocyten längst völlig hämolysiert sind war das Gewebe noch nicht zugrundegegangen. Eine starke und irreversible (aerobe) Glykolyse und das Fehlen der Reaktionsfähigkeit auf Azetylcholin gaben jedoch das starke Ausmaß der eingetretenen Schädigung und wohl beginnenden Cytolyse zu erkennen.

Diese Ergebnisse zeigen, daß das Gewebe gegen eine Zunahme des osmotischen Druckes, also gegen jede Vermehrung der Ionenkonzentration ganz unvergleichlich empfindlicher ist, als gegen jede andere Änderung des Ionenbestandes.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Bedeutung der Ringerlösung.*

II. Mitteilung.

Von

Norbert Brock und **Hermann Druckrey.**

(Eingegangen am 5. September 1941.)

1.

Bei der Besprechung der in der I. Mitteilung wiedergegebenen Versuchsergebnisse gehen wir von der bekannten und experimentell gut begründeten Vorstellung aus, daß die biologische Bedeutung der in der Gewebsflüssigkeit bzw. in physiologischen Lösungen enthaltenen Elektrolyte (wenn wir zunächst vom $H^{\cdot}$ und OH' absehen) auf drei Grundwirkungen beruht.

Das ist erstens die osmotische Wirkung; sie ist abhängig von der Zahl, nicht aber von der Art oder der Ladung der Teilchen.

Zweitens haben die Elektrolyte einen maßgeblichen Einfluß auf den Quellungszustand der Kolloide. Diese Wirkung hängt von der Art der Teilchen entscheidend ab. Selbst gleichgeladene Teilchen können bekanntlich sogar eine entgegengesetzte Wirkung haben, wie dies in den von Hofmeister[11] aufgestellten Reihen zum Ausdruck kommt. Durch die gleichzeitige Wirkung quellungsbegünstigender und quellungswidriger Ionen werden die Zellkolloide in einem mittleren Quellungszustand gehalten, der demgemäß nach beiden Seiten leicht variabel ist und so einerseits die eindrucksvolle Fähigkeit aller lebenden Substanz bedingt, ihren Zustand und ihre Funktion unter physiologischen Reizen leicht zu ändern und den jeweiligen Bedürfnissen anzupassen, andererseits aber auch die Ursache für ihre besondere Labilität gegenüber pathologischen Reizen und schädigenden Einflüssen ist. Wir werden also auch erwarten müssen, daß derartige Änderungen im Quellungszustand der Kolloide in allen physiologischen und pharmakologischen Wirkungsmechanismen eine wesentliche Rolle spielen, und können zugleich verstehen, daß physiologische und pathologische Reize die gleichen Änderungen mit allen Folgen auslösen können[4].

Die Bedeutung des Quellungszustandes der Kolloide für das Lebensgeschehen liegt einmal in der Tatsache daß alle Fermente an kolloide Träger gebunden sind und daß deren jeweiliger Zustand entscheidende

* Da das experimentell behandelte Gebiet ungewöhnlich groß ist, sehen wir im Interesse einer einigermaßen kurzen und klaren Darstellung von einer Besprechung der gesamten vorhandenen Literatur ab und behandeln nur solche Zusammenhänge, die durch unsere Befunde in besonderer Weise betroffen sind.

Bedeutung für das Ausmaß und sogar die Richtung der Fermentwirkung haben kann. Ferner bilden die Kolloide die Struktur der lebenden Substanz, also auch in den Zellgrenzschichten, die Membraneigenschaft besitzen. Die quellungswirksamen Ionen bestimmen daher auch die Durchlässigkeit der Zellgrenzschichten und haben so einen maßgeblichen Einfluß auf den Stoffaustausch zwischen Zellinnern und Außenflüssigkeit.

Die dritte Grundwirkung der Elektrolyte beruht auf ihrer Fähigkeit oder Unfähigkeit, die Zellgrenzschichten zu permeieren. Bestimmend dafür sind die Eigenschaften der Teilchen, nämlich ihre Löslichkeit in Wasser oder Lipoiden, ihr Ladungssinn und, soweit eine (fakultative) Lipoidlöslichkeit, wie z. B. bei CO_2 oder NH_3 nicht besteht, die Größe der (hydratierten) Ionen [18].

Die Tatsache, daß von den biologisch wichtigsten Ionen Na, K, Ca und Cl unter physiologischen Bedingungen nur das Kalium auf Grund der Kleinheit seines hydratierten Ions die Zellgrenzschichten permeieren kann, das mit einer großen Wasserhülle umgebene Natrium dagegen nicht oder erst bei stärkerer Zunahme der Membranpermeabilität und das Calcium überhaupt nicht, hat notwendig eine Verschiedenheit in der Verteilung der Ionen auf das Zellinnere und die umgebende Gewebsflüssigkeit zur Folge. So enthält die Zelle fast ausschließlich Kalium und nur ganz wenig Natrium als Kation („selektive Kalium-Akkumulation“ [12]), während außen umgekehrt das Natrium gegenüber dem Kalium um etwa das 30fache vorherrscht [19]. Ein ähnliches „Ungleichgewicht“ besteht in der Verteilung der Anionen beiderseits der Zellgrenzschicht: innerhalb der Zelle bildet das Eiweiß den wesentlichen Teil des Anionenbestandes, außerhalb der Zelle das Chlorid. Es stehen sich hier also Kolloid und Elektrolyt gegenüber. So setzt sich (auch bei bestehender Elektroneutralität+) der Kationen und Anionenbestand beiderseits der Zellmembran aus ganz verschiedenen Teilchen zusammen und bedingt Gleichgewichte oder besser: Ungleichgewichte und damit Potentiale besonderer Art, die von Donnan genauer untersucht und dargestellt wurden und die für das „Leben“ der Zelle anscheinend eine besondere Bedeutung haben.

Die Voraussetzung für eine solche ungleiche Verteilung der Ionen, besonders des Kaliums und Natriums, bildet die beschränkte Durchlässigkeit der Zellgrenzschichten, die wir mit guten Gründen durch die Kleinheit der die Zellmembran durchsetzenden Poren bedingt sehen. Hierfür scheint das Calcium eine maßgebliche Rolle zu spielen. Auf Grund seiner starken Adsorptionsfähigkeit wird es an den Zellgrenzschichten beträchtlich angereichert [20] und entfaltet daher hier in erster Linie seine

[18] Ruhland, W.: Jahrb. Bot. **51**, 376 (1912); Michaelis, L.: Naturw. **14**, 33 (1926); Mond, R.: Pflügers Arch. **217**, 618 (1927); Mond, R., u. F. Hoffmann: Ebenda **219**, 467 (1928); Mond, R., u. K. Amson: Ebenda **220**, 69 (1928). — [19] Literatur bei Heubner, W.: Handb. d. norm. u. path. Physiol. **16**, 1491 (1931); Mond, R., u. H. Netter: Pflügers Arch. **224**, 702 (1930). — [20] Lundegardh, H.: Biochem. Z. **298**, 51 (1938).

entquellende Wirkung, wirkt also in bekannter Weise „abdichtend". Unter solchen Gesichtspunkten werden auch unsere Ergebnisse über die biologische Bedeutung des Calciums zu betrachten sein.

Eine Änderung der Ionenverteilung und damit im eigentlichen Sinne eine „Funktion" der Elektrolyte wird nur dann eintreten können, wenn sich entweder der Ionenbestand auf einer Seite der Zellgrenzschichten ändert oder wenn die Durchlässigkeit der Zellgrenzschichten selbst so beträchtlich zunimmt, daß auch größere, sonst zur Permeation unfähige Ionen durchwandern können. Das wären die Voraussetzungen für den eigentlichen Mineralstoffwechsel.

2.

Der Vorgang des dissimilatorischen Stoffwechsels besteht darin, daß große Moleküle unter Freisetzung von Energie in eine größere Anzahl kleinerer (aber biologisch wirksamerer) Moleküle zerlegt werden. Diese häufen sich als Stoffwechselendprodukte zunächst in der Zelle an. Durch den fortgesetzten Stoffwechsel wird so ein stetes Konzentrationsgefälle vom Zellinnern nach außen aufrechterhalten, das mit Recht als wesentliche Grundlage des Lebensgeschehens angesehen wird. Diesem Gefälle folgend wandern die Stoffwechselprodukte aus der Zelle aus.

Soweit es sich um das Endprodukt des normalen Atmungsstoffwechsels, um CO_2 handelt, wird weder seine Entstehung in der Zelle, noch sein Auswandern aus ihr den Bestand der Elektrolyte und ihre Verteilung beiderseits der Membran ändern können, da das CO_2 unter den obwaltenden Umständen nur zu einem ganz kleinen Teil in ionisierter Form erscheint und auf Grund seiner guten Lipoidlöslichkeit und großen Diffusibilität die Zellgrenzschichten so unbehindert durchwandern kann, daß die Entstehung eines stärkeren Konzentrationsgefälles nicht möglich ist. Soweit das der Fall ist, mag es angängig sein, die Ionenverteilung beiderseits der Zellgrenzschichten als statische Gleichgewichte zu behandeln, wie es meist geschieht.

Ganz anders müssen diese Dinge jedoch liegen, wenn in der Zelle neben dem CO_2 noch schwer diffusible und stärker ionisierte Stoffwechselprodukte* gebildet werden. Denn damit ändert sich der Ionenbestand in der Zelle und demzufolge die Elektrolytverteilung. Dieser Fall tritt ein, wenn neben der Atmung noch Spaltprozesse ablaufen, deren Endprodukte solche schwer diffusiblen Stoffe, z. B. „fixe Säuren" sind, mag es sich nun um Milchsäure oder andere organische oder anorganische Säuren handeln, die ein größeres, stark hydratiertes Anion besitzen. Spaltprozesse müssen also zu Änderungen im Elektrolytgleichgewicht führen, die vollständigen Verbrennungsvorgänge dagegen nicht. Die Bedeutung des Auftretens z. B. einer „Glykolyse" scheint also nicht so sehr in der Zunahme der Wasserstoffionen-

* Daß die Produkte der unvollständigen Verbrennung auch starke pharmakologische Wirkungen haben können, wurde an anderer Stelle erwähnt [21].

konzentration am Entstehungsort zu liegen, als vielmehr darin, daß die Spaltprodukte geladene, osmotisch wirksamere und im übrigen schwer diffusible Teilchen sind. Eine stärkere Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration kann ohnehin gar nicht auftreten, schon deshalb nicht, weil die „Säurebildung" – wie auch aus den hier mitgeteilten Befunden (Abb. 18) hervorgeht – sehr p_H-abhängig ist und schon bei einer recht geringen Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration aufhört. Die entstehende Säure wird vor allem sofort durch das Alkali der Zelle, also in erster Linie durch Kalium gebunden. Durch diese Pufferung wird zwar die Säuerung verhindert, die Spaltprozesse werden dagegen nicht gehemmt, sondern durch die fortlaufende Pufferung sogar in Gang gehalten. Das Wesentliche ist also die Zunahme der geladenen und osmotisch wirksamen Teilchen in der Zelle. Diese Zunahme ist selbst bei vollständiger Pufferung der gebildeten Säure nur um so stärker, weil die Dissoziation der schwachen Säuren mit steigendem p_H zunimmt, bei physiologischer Wasserstoffionenkonzentration im übrigen praktisch vollständig ist. Das entstehende Konzentrationsgefälle der Spaltprodukte vom Zellinnern zur Außenflüssigkeit wird dabei auf Grund der geringen Diffusibilität der in Frage kommenden Anionen eine weit größere Steilheit erreichen können, als dies bei CO_2 je möglich ist, und damit zu beträchtlichen Änderungen in der Elektrolytverteilung führen.

Ebenso wie sich der Ionenbestand der Zelle bei Entstehung ionisierter Stoffwechselprodukte ändern muß, wird dies auch bei ihrem Abtransport aus der Zelle und aus dem Gewebe der Fall sein müssen. Da die in der Zelle entstandenen „fixen Säuren" bei ihrer Abdiffusion durch die Zellgrenzschichten infolge des elektrostatischen Zuges ein Kation mitnehmen müssen, muß dieser Vorgang notwendig zu einem Kaliumverlust der Zelle führen, denn Kalium ist das in der Zelle weitaus vorherrschende Kation. Seine (molare) Konzentration ist hier (mit wenigstens 300 mg%) z. B. 100000fach größer als die der Wasserstoffionen, die selbst bei einem p_H von 6 ja nur 0,0001 mg% beträgt. Diese Fragen haben wir in einer vorangegangenen Arbeit über die biologische Bedeutung des Kaliums eingehend behandelt.

Aus dieser Sachlage ergibt sich die grundlegende Bedeutung unserer Feststellung, daß nämlich praktisch alle Gewebe unter physiologischen Bedingungen im Ruhezustand einen reinen Atmungsstoffwechsel haben, in dem als Endprodukt das leicht diffusible CO_2 erscheint, während nach physiologischen oder pathologischen Reizen zusätzlich „fixe Säuren", also ionisierte Stoffwechselprodukte entstehen. Denn hieraus folgt notwendig, daß die biologische Bedeutung der Elektrolyte für „arbeitende", wachsende und für geschädigte „kranke" Gewebe eine grundsätzlich andere und höhere sein muß als für „ruhende" Gewebe [21]. Demgemäß konnten

[21] Druckrey, H.: Verh. Dtsch. Ges. Kreisl.forsch., Nauheim 1941.

wir auch immer wieder feststellen, daß der „Ruhestoffwechsel" auch in weitgehend unphysiologischen Lösungen, ja sogar in Lösungen von Nicht-Elektrolyten (sofern diese nur isoton sind), über lange Zeit und ohne nennenswerte Störung verlaufen kann, daß sich dagegen sofort sichtbare Ausfallserscheinungen meist schwerster Art ergeben, sobald bei wesentlichen Änderungen der Elektrolytzusammensetzung physiologische oder pathologische Reize einwirkten und damit Spaltprozesse ausgelöst wurden. So wurde z. B. das Kalium in der Salzlösung bei unseren Versuchen offenkundig nur dann vom Gewebe benötigt, wenn Reize eingewirkt hatten, nicht aber im Ruhestoffwechsel. Das entspricht durchaus dem Ergebnis von Kaliumbestimmungen, die gezeigt haben, daß z. B. der Muskel oder das Speicheldrüsengewebe nach einem Reiz Kalium verliert — und demgemäß bei der Erholung auch wieder aufnehmen muß —, im Ruhezustand dagegen nicht.

Damit ist zunächst klar herausgestellt, daß das arbeitende oder kranke Gewebe sich hinsichtlich seines Mineralstoffwechsels und, wie wir weiter zeigen konnten, auch hinsichtlich seines Substratbedarfs [6] in einer ganz anderen Situation befindet als im Ruhezustand, und daß demgemäß auch die Wirkung von Pharmaka (besonders dann, wenn in ihrem Mechanismus z. B. Kalium oder Calcium eine Rolle spielen) nach Ausmaß und Art davon abhängen kann, ob diese auf ein ruhendes, arbeitendes, wachsendes oder krankes Gewebe treffen. Die Verschiedenheit der Adrenalinwirkung auf die Gefäße in ruhenden bzw. in arbeitenden oder entzündlichen Geweben ist ein Beispiel dafür. Es findet durch die aufgezeigten Stoffwechselbesonderheiten eine erste Begründung.

Die hier betonte Tatsache, daß der Mineralstoffbedarf der Gewebe in der Ruhe ein anderer ist als nach einem „Reiz", veranlaßt uns weiter, nicht einfach von der Bedeutung eines bestimmten Elektrolyten für das Leben schlechthin zu sprechen, wie dies z. B. in Lehrbüchern stets geschieht, sondern die Bedingungen für das Erhaltenbleiben des Lebens von denen zu unterscheiden, die für das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit erfüllt sein müssen, wobei oft noch verschiedene Gewebe sich verschieden verhalten. Solche Unterschiede kommen in den vorliegenden Untersuchungen klar zum Ausdruck.

Damit sind in großen Zügen die Vorstellungen geschildert, die wir uns unter dem Eindruck unserer bisherigen experimentellen Ergebnisse bilden zu müssen meinten. Wir halten es für richtig, diese allgemeine Darstellung zu geben, bevor wir zu den einzelnen Versuchsergebnissen Stellung nehmen.

Calcium.

Nach unseren Befunden wurde auch das Calcium vom Gewebe immer dann gebraucht, wenn eine „Schädigung" oder „Reizung" vorausgegangen war. Seine Anwesenheit war anscheinend ebenfalls notwendig, um eine ge-

meinsame unspezifische Folge der Schädigung wie der Reizung zu beseitigen. Nach zahlreichen Befunden der Literatur [22] und eigenen Untersuchungen [4, 9] kommt es sowohl nach Schädigung wie nach einem physiologischen Reiz zu einer Zunahme des Quellungsgrades der Zellkolloide, deren Zustand besonders in den Zellgrenzschichten von maßgeblicher Bedeutung für ihre Durchlässigkeit und damit für den Stoffaustausch der Zelle ist. Da wir hier einen wesentlichen Angriffspunkt der Calciumwirkung annehmen müssen [20, 23], würde das bedeuten, daß bei Abwesenheit von Calcium die Wiederherstellung der normalen Permeabilitätsverhältnisse erschwert ist. Diese Anschauung steht im Einklang mit den bekannten quellungswidrigen Eigenschaften des Calciums. Darauf werden wir im folgenden noch zurückkommen.

Auf den Stoffwechsel hatte das Fehlen von Calcium in allen Versuchen unabhängig von der Art des Gewebes stets eine charakteristische Wirkung, nämlich die, daß auch im Ruhestoffwechsel eine zumindest vorübergehende Bildung „fixer Säuren" auftrat. Ihre ursächliche Beziehung zum Calciummangel konnten wir dadurch erweisen, daß die Zugabe von Calcium in physiologischer Konzentration diese Säurebildung aufhob, und zwar vollständig und in allen Fällen. Da sie jedoch bei Fehlen von Calcium nur dann auftrat, wenn spaltbares Kohlehydrat vorhanden war, müssen wir annehmen, daß die Säurebildung aus Spaltprozessen im Kohlehydratstoffwechsel stammt („Glykolyse"). Das würde bedeuten, daß das Calcium maßgeblich in den Kohlehydratstoffwechsel der Zelle eingreifen kann. Das gleiche hatten wir bereits für das Kalium nachgewiesen [7], und zwar hatte das Kalium gerade die gegenteilige Wirkung: Fehlen von Kalium hob die Fähigkeit zur Säurebildung auf, Zugabe von Kalium stellte sie wieder her. Es scheint also auch hinsichtlich dieser Stoffwechselwirkung der Kationen ein Kalium-Calcium-Antagonismus zu bestehen. Tatsächlich haben die Versuche denn auch immer wieder gezeigt, daß die Wirkung des Calciums auch hier auf das engste mit der des Kaliums verknüpft ist. So trat die Säurebildung bei Abwesenheit von Calcium nur dann auf, wenn Kalium zugegen war bzw. zugesetzt wurde. Das entspricht in jeder Weise dem Ergebnis unserer früheren Untersuchungen, nach denen das Kalium für diese Form der Säurebildung, die hier wahrscheinlich einer Glykogenolyse entspricht, unumgänglich notwendig ist.

In einer früheren Arbeit [7] haben wir uns mit der Beobachtung beschäftigt, daß immer dann eine Bildung „fixer Säuren" im Gewebsstoffwechsel stattfand, wenn eine Zunahme der Permeabilität der Zellgrenzschichten nachweislich vorhanden oder wenigstens anzunehmen war, z. B. nach Reizen, bei der Zellteilung, Entwicklungserregung oder unter pathologischen Bedingungen. Diese Zusammenhänge scheinen einer

[22] Gellhorn, E.: Das Permeabilitätsproblem. Berlin 1929. — [23] Vgl. Seelich, F.: Pflügers Arch. **242**, 275 (1939).

einfachen Erklärung zugänglich zu sein, denn inzwischen hat Runnström[24] überzeugend gezeigt, daß die begrenzte Permeabilität der Zellmembran der „begrenzende Faktor" für die Geschwindigkeit der Kohlehydratspaltung ist. Danach muß also jede Abnahme der Durchlässigkeit auch zu einer Abnahme der Spaltprozesse, jede Zunahme der Durchlässigkeit dagegen zu einer Zunahme der Spaltprozesse führen können, wie dies wohl für den gesamten Stoffaustausch durch die Zellgrenzschichten gelten wird. Haben die Spaltprozesse z. B. auf diese Weise einen solchen Umfang angenommen, daß eine vollständige Oxydation der Spaltprodukte unter den gegebenen Verhältnissen nicht mehr möglich ist, so werden sie sich anhäufen und als „aerobe Glykolyse", oder allgemeiner gesagt, als „Säurebildung" in Erscheinung treten. Damit wäre zugleich verständlich, daß die Höhe der Atmung beim Auftreten einer Glykolyse nicht herabgesetzt zu sein braucht, wie man dies etwa nach den Vorstellungen Pasteurs oder Meyerhofs über die Beziehung zwischen Atmung und Gärung erwarten könnte, sondern im Gegenteil wenigstens vorübergehend sogar beträchtlich gesteigert sein kann. Das haben wir bei unseren Versuchen bisher auch stets gefunden. Auch bei den hier geschilderten Versuchen sahen wir, daß z. B. bei Fehlen des abdichtend wirkenden Calciums nicht nur eine Säurebildung auftrat, sondern auch die gesamte Atmung anfangs ganz beträchtlich über der Norm lag und erst dann auf niedrigere Werte abfiel.

So kann es wohl kaum zweifelhaft sein, daß alle Vorgänge oder Wirkungen, die eine Permeabilitätsänderung an den Zellgrenzschichten zur Folge haben, auch den Stoffaustausch durch diese, also auch den Stoffwechsel beeinflussen müssen. Unter diesem Gesichtspunkt scheint uns die bekannte „abdichtende" Wirkung des Calciums zugleich auch die einfachste Erklärung für seine von uns beobachtete Wirkung auf den Stoffaustausch zu sein. Die Berücksichtigung der Möglichkeit solcher Zusammenhänge warnt ferner davor, an lebenden Geweben beobachtete Änderungen des Stoffumsatzes ohne weiteres oder nur auf Änderungen des Fermentgehaltes oder ihres Wirkungsgrades zu beziehen.

Für das ruhende Gewebe scheint das Calcium nach unsern Ergebnissen ebenso wenig unbedingt notwendig zu sein wie das Kalium. Wenn im Ruhestoffwechsel bei Fehlen von Calcium in der Locke-Lösung anfangs eine Säurebildung auftrat, so dürfte das auf die methodisch notwendige Gewebsschädigung zu beziehen sein. Sie verschwand demgemäß stets nach einiger Zeit von selbst vollständig und machte einem anscheinend normalen Atmungsstoffwechsel Platz. Selbst bei gleichzeitigem Fehlen von Kalium und Calcium zeigte das Gewebe einen über viele Stunden gleichbleibenden Stoffwechsel.

Sobald indessen (vor allem wiederholte oder stärkere) Reize auf das Gewebe einwirkten, zeigte sich die bekannte unbedingte Notwendigkeit des Calciums. Wir sahen zwar, daß das Gewebe auch in calciumfreier

[24] Runnström, J., E. Sperber u. W. Feller: Naturw. **26**, 547 (1938).

Lösung zunächst doch noch auf Acetylcholin kräftig reagierte. Das steht aber nur scheinbar in Widerspruch zu den an muskulären Organen gemachten Erfahrungen, denn es sprachen viele Gründe dafür, daß das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit in calciumfreier Lösung nur darauf zu beziehen ist, daß das Gewebe selbst noch genügend Calcium enthielt. Es ist von vornherein wahrscheinlich, daß das Calcium auf Grund seiner starken Adsorptionsfähigkeit viel zu fest an das Gewebe gebunden wird, als daß es durch einfaches Auswaschen in genügendem Umfange entfernt werden könnte. Dagegen scheint das Gewebe nach einem Reiz Calcium zu verlieren und bei der Erholung wieder aufzunehmen. Dafür spricht schon der stets in der gleichen Weise erhobene Befund, daß das Gewebe in calciumfreier Locke-Lösung erst nach einer längeren Erholungszeit auf einen erneuten Reiz wieder zu reagieren vermochte, bei Anwesenheit von Calcium dagegen praktisch sofort. Die Erholung schien dabei um so länger zu dauern, je weniger Calcium die Lösung enthielt. Die Annahme, daß das Gewebe nach einem Reiz funktionswichtiges Calcium in die calciumfreie Lösung abgibt, bei der Erholung aber wieder aus ihr aufzunehmen vermag, konnte durch eine weitere Beobachtung erhärtet werden. Die Erholung blieb nämlich aus, wenn das Gewebe (dünne Gewebsschnitte!) nach der in calciumfreier Lösung erfolgten Reizung in eine frische calciumfreie Lösung übertragen wurde, ihm also die Möglichkeit der Wiederaufnahme des abgegebenen Calciums genommen war. Unter diesen Umständen reagierte das Gewebe nicht mehr auf Acetylcholin. Der schlüssige Beweis dafür, daß der Verlust der Reaktionsfähigkeit tatsächlich nur durch das Fehlen von Calcium verursacht war, das Gewebe also Calcium verloren haben muß, folgt dann aus dem Nachweis, daß allein der Zusatz von Calcium die Erregbarkeit wiederherstellte. Hierfür war nur eine ganz geringe Menge Calcium notwendig, weniger als der zehnte Teil der physiologischen Konzentration. Die geringe, im Gewebe enthaltene Menge Calcium kann also durchaus für das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit ausreichen. In diesen Versuchen kommt damit die unbedingte Notwendigkeit einer bestimmten, sehr kleinen Calciumkonzentration für die Fähigkeit des Gewebes, Reize zu beantworten, ebenso zum Ausdruck, wie dies von muskulären Organen bekannt ist. Wenn diese Verhältnisse z. B. am Froschherzen ohne weiteres festzustellen sind, am Speicheldrüsengewebe dagegen erst nach mehrfacher Reizung, so dürfte das einfach daran liegen, daß am Herzen ohnehin in ununterbrochener Folge Reize ablaufen. Auf derselben Linie dürfte unser Befund liegen, daß für die Wirkung des Physostigmins, die bekanntlich lange anhält, auch am Speicheldrüsengewebe das Vorhandensein von Calcium absolut und von Anfang an notwendig war. In calciumfreier Lösung blieb jede Wirkung aus.

Wir hoffen, daß es nun möglich sein wird, die biologisch höchst wichtige Frage der Auswanderung von Calcium aus dem Gewebe nach Reizen und seiner Wiedereinwanderung bei der Erholung durch direkte Calcium-

bestimmungen endgültig zu entscheiden, da unsere Beobachtungen Hinweise dafür geben, wann, an welchem Objekt und unter welchen Umständen dies am zweckmäßigsten geschehen müßte.

Es ist nun höchst auffällig, daß unsere Befunde, die wir bei diesen Versuchen über die Bedeutung des Calciums für die Reaktionsfähigkeit des Gewebes erhoben haben, weitgehend denen entsprechen, die sich uns bei ebenso angelegten Versuchen über die Bedeutung des Kaliums ergeben hatten. Die biologische Funktion beider Kationen ist also auch nach diesen Ergebnissen eng miteinander verknüpft.

Eine Aufklärung über die Art der Wechselwirkungen zwischen Kalium und Calcium bringen die Versuche, in denen die Wirkung unphysiologisch hoher Kaliumkonzentrationen einmal bei Vorhandensein und zum andern bei Fehlen von Calcium auf die Reaktionsfähigkeit der Speicheldrüsen untersucht wurde. Sie erbrachten das uns höchst interessant erscheinende Ergebnis, daß bei zunehmender Steigerung des Kaliumgehaltes in der Lösung (bei Vorhandensein von Calcium) die Reaktionsfähigkeit des Gewebes gerade in dem Augenblick erlosch, in dem die Kaliumkonzentration in der Lösung etwa den 20fachen Wert erreicht hatte und damit der in der Zelle vorhandenen Kaliumkonzentration angenähert wurde, das physiologische Kaliumkonzentrationsgefälle zwischen Zellinnern und Außenflüssigkeit also praktisch aufgehoben war. Gleichzeitig mit der Reaktionsfähigkeit wurde auch die Säurebildung aufgehoben. Da nach unsern früheren Versuchen die gleiche Wirkung eintrat, wenn dem Gewebe Kalium entzogen wurde, hat es den Anschein, daß ein Aufheben des Kaliumkonzentrationsgefälles in jedem Falle diese Ausfallserscheinungen zur Folge hat, ganz gleich, ob es durch Senken des Kaliumgehaltes im Innern der Zelle oder durch seine Steigerung in der Außenflüssigkeit herbeigeführt wurde. Das Vorhandensein des Kaliumkonzentrationsgefälles vom Zellinnern zur Außenflüssigkeit erscheint damit als notwendige Voraussetzung für den Ablauf der physiologischen Funktion und des diese begleitenden Stoffwechsels („Glykolyse").

Wenden wir diese Vorstellungen auf unsere Versuche über den Stoffwechsel bei Fehlen von Calcium an, so ergibt sich folgendes Bild. In diesem Falle bildet das Gewebe, wie wir sahen, wenigstens vorübergehend schon im Ruhestoffwechsel „fixe Säuren", muß damit also nach unseren Beobachtungen auch Kalium verlieren, das Kaliumkonzentrationsgefälle nach außen müßte abnehmen. Das würde heißen, daß das Calcium für das Festhalten von Kalium in der Zelle also für das Erhaltenbleiben des Gefälles und wahrscheinlich auch für die „selektive Kaliumakkumulation" in der Zelle notwendig ist. Diese Vorstellung wird nun tatsächlich durch die Beobachtung wahrscheinlich gemacht, daß bei Fehlen von Calcium sowohl die Säurebildung als auch die Reaktionsfähigkeit des Gewebes schon bei einer recht geringen Steigerung des Kaliumgehaltes in der Außenflüssigkeit aufgehoben wurde, nämlich schon bei einer Steigerung

um mehr als das Vierfache. Bei der zehnfachen Kaliumkonzentration waren beide Funktionen von Anfang an vollkommen aufgehoben, während bei Anwesenheit von Calcium eine solche Steigerung des Kaliumgehaltes noch ohne sichtbare Wirkung blieb.

Legen wir die hier entwickelten Vorstellungen über die Bedeutung des Calciums für die Erhaltung der beschränkten Zellpermeabilität und damit für das Erhaltenbleiben bzw. den Aufbau des lebensnotwendigen Kaliumkonzentrationsgefälles zwischen Zellinnern und Außenflüssigkeit zugrunde, so bedürfen auch unsere weiteren Versuchsergebnisse, die die „Schutzwirkung" des Calciums für die Zelle und seine Notwendigkeit für den Erholungsvorgang erweisen, keiner ausführlichen Erklärung mehr.

Wir sahen, daß das Gewebe bei Abwesenheit von Calcium in verschiedenen Versuchsanordnungen gegen schädliche Einwirkungen überaus „anfällig" war, während bei Vorhandensein von Calcium die gleichen Eingriffe überhaupt keine oder nur geringe Störungen verursachten. Selbst die geringe „Belastung", die ein physiologischer Reiz durch Acetylcholin für das Speicheldrüsengewebe doch nur bedeuten kann, führte bei Calciummangel insofern zu sichtbaren Ausfällen, als hier eine erfolgreiche Wiederholung desselben Reizes erst nach langer Erholungszeit, während der das Gewebe sich „refraktär" verhielt, wieder möglich war. Bei Vorhandensein von Calcium trat dagegen nach demselben Reiz eine so schnelle Erholung ein, daß das Gewebe schon vor dem vollständigen Abklingen der ersten Wirkung wieder ansprach. Das Calcium ist also für die „Erholung" des Gewebes nach vorangegangenen Reizen oder Schädigungen notwendig. Demgemäß fanden wir auch, daß die Erholung bei völligem Fehlen von Calcium ausblieb und erst nach Zusatz von Calcium eintrat. Selbst schwere Schädigungen, die bei Fehlen von Calcium zu irreversiblen Störungen oder zum Tode des Gewebes führten, wurden bei Anwesenheit von Calcium so überstanden, daß eine Wiederherstellung der Reaktionsfähigkeit möglich war. Die „Schutzwirkung" des Calciums tritt also nicht nur gegenüber der schädigenden Wirkung eines erhöhten Kaliumgehaltes zutage — wie man dies etwa nach Versuchen am Froschherzen annehmen könnte —, sondern ganz allgemein gegen jede Art von schädigenden Einwirkungen.

Die Frage, auf welcher Eigenschaft des Calciums seine biologische Wirkung letzten Endes beruht, ist schwer zu beantworten. Wenn bisher von den physikalischen Eigenschaften des Calciumions vor allem seine Zweiwertigkeit als befriedigende Erklärung seiner biologischen Wirkungen angeführt wurde, weil es am Froschherzen möglich ist, das Calcium durch andere zweiwertige Ionen zu ersetzen [10], so vermögen wir dem nicht ganz zu folgen. Schon der Befund, daß das Calcium in unseren Versuchen weder durch Strontium noch durch Magnesium voll ersetzt werden konnte, daß der Ersatz vielmehr nur ein höchst oberflächlicher war, warnt vor einer Verallgemeinerung der am Froschherzen gewonnenen Befunde. Auch die Pharmakologie kennt beträchtliche Unterschiede in der Wirkung

der zweiwertigen Erdalkalimetallionen, ja sogar einen echten Antagonismus zwischen Calcium und Magnesium.

Bei diesen Versuchen fiel besonders auf, daß selbst in den Fällen, in denen ein scheinbar weitgehender Ersatz des Calciums z. B. durch Strontium oder Magnesium möglich war, wie bei der Acetylcholinwirkung auf das Speicheldrüsengewebe, doch eine Folge des Calciummangels niemals behoben werden konnte, nämlich die Säurebildung. Diese konnte nur durch den Zusatz von Calcium zum Verschwinden gebracht werden. Hier liegt also eine besondere Calciumwirkung vor, die sich interessanterweise auf den Kohlehydratstoffwechsel bezieht.

Der Befund, daß auch das einwertige Lithium bis zu einem gewissen Grade das Calcium zu ersetzen vermochte oder doch wenigstens calciumähnliche Wirkungen hatte, mag zunächst überraschend erscheinen. Dies vor allem, wenn man an die Feststellung Overtons[17] denkt, daß das Lithium bei Versuchen am Froschmuskel gerade das Natrium, nicht aber das Calcium ersetzen konnte. Indessen fand Runnström[25] am Seeigelei, daß das Lithium strukturvergröbernd, also quellungswidrig wirkt, wie Calcium. Darauf ist wohl auch sein günstiger Einfluß gegenüber der schädigenden Wirkung eines erhöhten Kaliumgehalts zurückzuführen, den übrigens auch schon Loeb[26] beschrieb. Diese Wirkungen entsprechen auch den physikalischen Eigenschaften des Lithiums besser. In der Hofmeisterschen Reihe ordnen sich die Kationen nach ihrer Wirkung auf den Quellungszustand der Eiweißkörper bei physiologischer Wasserstoffionenkonzentration wie folgt:

$$Ca > Sr > Li > Cs > Na > Rb > K.$$

Das Lithium steht also neben den Erdalkalimetallen. Seiner Hydratationsneigung nach, die ja für die Wirkung der Elektrolyte auf den Quellungszustand des Eiweißes von maßgeblicher Bedeutung ist, entspricht das Lithium dem Calcium noch mehr, beide binden für jedes Ion 12 Wassermolekeln, Natrium dagegen nur 8, Kalium 4. Ferner ist die Ionenbeweglichkeit des Lithiums (in unendlicher Verdünnung und bei 18° nach Remy[27]) mit 33,5 weit geringer als die aller anderen Alkalimetallionen. Demnach ist es völlig verständlich, daß das Lithium quellungswidrig und calciumähnlich auf das Eiweiß wirken kann.

Wenn es, wie in den Versuchen von Overton, auch das Natrium zu ersetzen vermag, so erklärt sich das wohl am zwanglosesten aus seiner Mittelstellung in der Hofmeisterschen Reihe, in der wir es zwischen die Gruppe der Erdalkali und Alkalimetallionen gestellt fanden. Beim Lithium ist ferner zu berücksichtigen, daß seine Wirkung auf das Eiweiß weit stärker von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt, als dies etwa

[25] Runnström, J.: Acta Zool. **9**, 305 (1928). — [26] Loeb, L.: J. gen. Physiol. (Am.) **3**, 237 (1920). — [27] Remy, H.: Lehrb. d. anorg. Chem. (Leipzig 1939).

beim Natrium oder Kalium der Fall ist. Ferner spielt naturgemäß auch die Lage des isoelektrischen Punktes der im jeweiligen Versuchsobjekt maßgeblichen Eiweißkörper eine entscheidende Rolle, so daß das Lithium an einem System quellungswidrig, am anderen sogar quellungsfördernd zu wirken vermag. In unsern Versuchen vermochte das Lithium das Natrium nicht zu ersetzen.

Daß auch Glucose in unsern Versuchen calciumähnliche Wirkungen zeigte, steht durchaus im Einklang nicht nur mit eigenen früheren Versuchen [6], sondern auch mit zahlreichen anderen Arbeiten [28, 29]. Ob es sich dabei aber wirklich nur um eine eigene „abdichtende" Wirkung der Glucose handelt, möchten wir für zweifelhaft halten. Vielmehr können wir uns z. B. vorstellen, daß diese Wirkung der Glucose über eine Beeinflussung des Stoffwechsels verläuft oder bei Anwendung hoher Glucosekonzentrationen einfach dadurch eintritt, daß der quellungsfördernde Einfluß des Natriums in dem Maße fehlt, in dem Natrium durch Glucose ersetzt wurde. Ein vollkommener Ersatz des Calciums war indessen durch Lithium oder Glucose noch weniger möglich als durch die Erdalkalimetalle.

In allen Fällen ließ sich der Ersatz des Calciums durch andere Stoffe jedoch wesentlich günstiger gestalten, wenn zusätzlich eine Mindestmenge Calcium vorhanden war, die allerdings so klein sein konnte, daß sie für sich noch keine sichtbaren Wirkungen entfaltete. Hierzu reichte unter Umständen das wenige im Gewebe gebundene Calcium aus, wenigstens bei Verwendung dickerer Gewebsschnitte. Dieser Befund entspricht dem bekannten pharmakologischen Sachverhalt, daß an den verschiedensten Objekten und unter ganz verschiedenen Umständen stets eine geringe Mindestkonzentration Calcium notwendig ist, um mit anderen Stoffen eine „Besserung" zu erzielen. Das fand zuerst Loewi [30] für das Strophanthin am Froschherzen, Höber [31] für die mehrwertigen Kationen, Krautwald und Stuhlmann [32] für Kaolin und Quarz, und ebenso sahen wir es bei unseren Versuchen, das Calcium am Froschherzen durch Adstringentien zu ersetzen [33]. Immer war es so, daß eine bestimmte sehr kleine Calciumkonzentration vorhanden sein mußte.

Danach ist anzunehmen, daß das Calcium doch eine spezielle nur ihm eigene Wirkung haben muß, für die allerdings nur sehr wenig Calcium notwendig zu sein scheint. Diese spezielle Calciumwirkung läßt sich zur Zeit nur feststellen, aber nicht genauer umschreiben. Wir können nur sagen, daß sie mit grundlegenden Funktionen der Zelle verknüpft sein

---

[28] Sperber, E., u. J. Runnström: Biochem. Z. **300**, 373 (1939). — [29] Loewi, O.: Pflügers Arch. **187**, 105 (1921); Handovsky, H.: Ebenda **190**, 173 (1921); Rhode, H.: Biochem. Z. **131**, 560 (1922); Höber, R., u. A. Memmesheimer: Pflügers Arch. **198**, 564 (1923); Cousy: Arch. internat. Physiol. **21**, 90 (1923). — [30] Loewi, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 131 (1918). — [31] Höber, R.: Pflügers Arch. **182**, 104 (1920). — [32] Krautwald, A., u. M. Stuhlmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 152 (1938). — [33] Brock, N., u. H. Druckrey: Ebenda **188**, 186 (1938).

muß, weil sie an den verschiedenartigsten Geweben stets in gleicher Weise festzustellen war. Vielleicht spielt hier die oben besprochene Beziehung zum Kohlehydratstoffwechsel eine Rolle.

Weiter müssen wir annehmen, daß die Wirkung des Calciums nicht so entscheidend auf seiner Zweiwertigkeit beruhen kann, wie es oft behauptet wird, denn es war ja auch durch das einwertige Lithium teilweise zu ersetzen. Auch in dieser Hinsicht zeigen unsere Ergebnisse, wie unvollkommen unsere Kenntnis über die biologische Bedeutung des Calciums noch ist, und werfen mehr Fragen auf, als sie zu beantworten vermögen.

Natrium.

Die biologische Bedeutung des Natriums ist noch weniger geklärt als die des Calciums. Nach Lehrbüchern [34] und zusammenfassenden Abhandlungen soll das Natrium mehr „allgemeine" Funktionen besitzen, nämlich die, durch seine quellungsfördernde Wirkung gemeinsam mit dem Calcium den mittleren Quellungszustand der Colloide aufrechtzuerhalten, sowie ferner die Isotonie zu gewährleisten. In der Literatur finden sich jedoch verschiedentlich Angaben über besondere Wirkungen des Natriums, so z. B. für die Muskel- und Nervenreizbarkeit [17], die Ödembereitschaft [35] und das „Salzfieber" [36].

Die osmotische Wirkung der Natriumsalze spielt sicher eine beträchtliche Rolle, denn wir sahen, daß das Natrium der Locke-Lösung durch andere Ionen (soweit sie nicht spezielle Wirkungen hatten) oder sogar durch einen Nicht-Elektrolyten ohne Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit des Gewebes weitgehend ersetzt werden konnte, sofern die Lösung nur isoton blieb. Ein vollständiger Entzug des Natriums führte dagegen stets zum Erlöschen der Reaktionsfähigkeit. Die Versuche, die Mindestmenge Natrium zu ermitteln, die für das Erhaltenbleiben der Reaktionsfähigkeit des Gewebes unbedingt erforderlich ist, ergab stets den Wert von etwa 15% des normalen Gehaltes. Wir haben also auch hier beim Natrium den Fall, daß ein bestimmter Bruchteil anscheinend unersetzbar ist und somit andere Wirkungen haben muß als die Hauptmenge des Natriums, die vornehmlich osmotische Funktionen auszuüben scheint, da sie — wie wir sahen — durch andere Stoffe in osmotisch gleich wirksamer Konzentration ersetzbar war.

Diese „zweite" spezielle Wirkung des Natriums scheint wieder ähnlich, wie dies beim Calcium der Fall war, von allgemeiner Bedeutung für lebende Zellen zu sein, und nicht nur für den Fall des Speicheldrüsengewebes zuzutreffen. Overton [17] fand am quergestreiften Muskel, daß das Natrium

---

[34] Z. B.: Starkenstein: Lehrbuch der Pharmakologie. (Leipzig und Wien 1938.) — [35] Blum, L.: Verh. Kongr. f. inn. Med. **26**, 122 (1909); Pfeiffer, E.: Ebenda **28**, 506 (1911); Meyer, L. F., u. S. Cohn: Z. Kinderkr. **2**, 360 (1911); Dienst, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 567 (1936). — [36] Schaps: Vers. Dt. Naturf. 1906.

nur bis zu einem Rest von 30 mg%, also 10% des normalen Gehaltes in der Ringerlösung ersetzbar ist. Unterhalb dieses Grenzwertes erlosch die Erregbarkeit des Muskels. Dies Ergebnis zeigt mit unsern Versuchen eine überzeugende Übereinstimmung.

Es liegt nahe, für die Unersetzbarkeit des Natriums jene Vorstellungen als Erklärung heranzuziehen, die wir eingangs entwickelten: Die Zelle enthält nur wenig Natrium, dagegen viel Kalium. In der Außenflüssigkeit ist das Verhältnis gerade umgekehrt, hier verhält sich das Kalium zum Natrium wie 1 : 30. Die Existenz des als lebenswichtig erkannten Kaliumgefälles von der Zelle nach außen setzt auf Grund des bestehenden Ladungsgleichgewichtes beiderseits der Zellmembran ein umgekehrtes Gefälle eines anderen Kations, nämlich des Natriums voraus. D. h.: die einander entgegengerichteten Gefälle des Kaliums und des Natriums sind untrennbar miteinander verbunden, Änderungen des einen müssen Rückwirkungen auf das andere haben. Senken wir also den Natriumgehalt in der Außenflüssigkeit soweit, daß das Gefälle zum Zellinnern ausgeglichen wird, so muß die Reaktionsfähigkeit des Gewebes ebenso aufgehoben werden wie durch einen Ausgleich des Kaliumgefälles. Das tritt, wie wir sahen, auch tatsächlich ein, wenn der Natriumgehalt auf 10 bis 15% des Normalwertes in der Außenflüssigkeit gesenkt wird.

Die Unersetzbarkeit des Natriums in der gefundenen Mindestkonzentration läßt sich so ohne besondere Hypothesen verstehen. Das Natrium hätte danach außer seiner Wirkung auf den Quellungszustand der Eiweißkörper zwei weitere Teilfunktionen. Die erste wäre eine osmotische. Hier muß ein Ersatz des Natriums durch jede andere Substanz in osmotisch gleich wirksamer Konzentration möglich sein, ob diese nun eine Ladung trägt oder nicht. So war es in unsern Versuchen hinsichtlich 85% des vorhandenen Natriums auch der Fall. Die zweite Teilfunktion wäre dann durch das wechselseitige Gefälle der Kationen in der oben geschilderten Weise bedingt. Da es sich hier um die Verteilung positiver Ladungen beiderseits der Zellgrenzschichten handelt, kann ein Ersatz des Natriums für diese Funktion nur durch geladene Teilchen, und zwar nur durch Kationen möglich sein. Dafür kommen jedoch nach den vorausgegangenen Überlegungen nur solche Kationen in Frage, die im Gegensatz zum Kalium die Grenzschichten nicht permeieren können und die weiter eine Ionenbeweglichkeit besitzen, die der des Natriums angenähert entspricht. Diese Voraussetzungen treffen aber für keins der in Frage kommenden Kationen zu. Ein Ersatz durch Rubidium oder Caesium ist deshalb ausgeschlossen, weil beide die Zellgrenzschichten durchwandern können, sich also wie Kalium verhalten[7]. Lithium, Strontium, Magnesium und Calcium sind dagegen ungeeignet, weil ihre Ionenbeweglichkeit zu klein ist, ihre Hydratation und Adsorptionsfähigkeit zu groß. Natrium ist von allen Alkali- und Erdalkaliionen das einzige, das den gestellten Forderungen entspricht. Seine Unersetzbarkeit beruht also wahrschein-

lich nur darauf, daß es seine an sich unspezifische Wirkung auf Grund bestimmter physikalischer Eigenschaften an der richtigen Stelle betätigen kann. Solche Sachverhalte sind in der Pharmakologie aus zahlreichen Beispielen bekannt.

Damit ist die Bedeutung des Natriums jedoch keinesfalls erschöpfend dargestellt. Es seien nur die Befunde Seelichs[23] erwähnt, die zeigen, daß die Natriumionen noch in einer 0,004—0,016 molaren Konzentration die Aktivität der Calciumionen in der Lösung deutlich nachweisbar herabsetzen und damit auch indirekt die Hydratation der Phasengrenzflächen in heterogenen kolloiden Systemen beeinflussen. Das ist ein weiteres Beispiel für die enge Verknüpfung der verschiedenen Elektrolytwirkungen, die die außerordentliche Variabilität der lebenden Substanz mitbedingt.

Chlorid.

Die Versuche mit chloridfreien Lösungen ergaben, daß Leben und Funktion des Speicheldrüsengewebes anscheinend vollkommen unabhängig vom Vorhandensein des Chlorids ist. Nach seiner Stellung in der „lyotropen Reihe" hätte man an einen quellungsbegünstigenden Einfluß auf die Kolloide denken können. Wir sahen jedoch, daß es ohne weiteres durch Sulfat vollständig ersetzt werden kann. Vom Sulfat wären andererseits quellungswidrige, calciumähnliche Wirkungen zu erwarten gewesen, die wir jedoch ebenfalls nicht fanden. Es scheint überhaupt so zu sein, daß Anionen in dieser Hinsicht nicht gegen Kationen antagonistisch wirken können. Es liegen hier Versuche von Höber und Schürmeier[37] mit Eiweißlösungen vor, die dem ganz entsprechen. Sie ergaben, daß der Kationenantagonismus nur an der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes (auf der das Eiweiß ja Anioneneigenschaft besitzt) festzustellen ist, während der Anionenantagonismus auf der — biologisch kaum aktuellen — sauren Seite vorhanden ist. Danach wäre eine Beeinflussung des Quellungszustandes durch Anionen nur bei besonderen Eiweißkörpern oder unter besonderen Bedingungen biologisch anzunehmen. In Übereinstimmung damit beobachteten Loeb[38] und später Runnström[25] auch an Seeigeleiern, daß Sulfat und Phosphat nicht dieselbe Fähigkeit wie das Calcium haben, die quellungsbegünstigende Wirkung der reinen Natriumsalzlösung aufzuheben.

Als besondere Folge des Ersatzes von Chlorid durch Sulfat stellten wir in unsern Versuchen das Auftreten einer kräftigen und anhaltenden Säurebildung fest. Wir vermögen einstweilen für diese Erscheinung keine Aufklärung zu geben. Vielleicht ist sie auf eine Beeinflussung des Calciums durch Sulfat zu beziehen.

[37] Höber, R., u. A. Schürmeier: Pflügers Arch. **214**, 516 (1926). — [38] Loeb, J.: Ebenda **88**, 68 (1901).

Die Wasserstoffionen.

Die Ergebnisse der Versuche, in denen wir — bei Konstanz der CO_2-Konzentration — den Bicarbonatgehalt und damit auch die Wasserstoffionenkonzentration änderten, sind in dreifacher Hinsicht von Interesse. Zunächst zeigen sie, daß die Reaktionsfähigkeit des Gewebes und erst recht das „Leben" keineswegs an eine sehr eng begrenzte Wasserstoffionenkonzentration gebunden sein kann. Vielmehr konnten wir auf diese Weise das p_H zwischen 6,8 und 8,1, also die Wasserstoffionenkonzentration im Verhältnis 1 : 20 ändern, ohne daß die Erregbarkeit des Gewebes stärker beeinträchtigt wurde. Es ist jedoch auffallend, daß solche Änderungen nur nach der alkalischen Seite möglich waren. Eine Senkung der Bicarbonatkonzentration bis zur Überschreitung des Neutralpunktes (bei 37° bei p_H 6,8) ins Saure hinein führte dagegen zum Verlust der Reaktionsfähigkeit und, was ebenso bemerkenswert erscheint, auch zum Erlöschen der Säurebildung. Der RQ. sank dabei meist auf Werte unter 0,5!

Daß die Wasserstoffionen die Säurebildung (Glykolyse) hemmen, ist uns aus eigener experimenteller Erfahrung und aus der Literatur [39] gut bekannt, ist im übrigen nach dem Massenwirkungsgesetz auch zu fordern. Die sonst dazu notwendige Wasserstoffionenkonzentration ist jedoch, wie z. B. auch Warburg [39] an der Glykolyse des Tumorgewebes feststellte, größer; erst bei einem p_H von 6,3, also einer dreifach höheren Konzentration der Wasserstoffionen wurde eine vollständige Glykolysehemmung gefunden. Wir finden demgegenüber bei den von uns untersuchten Geweben, daß schon ganz geringe Säuregrade starke Wirkungen entfalten. Das kann nur daran liegen, daß die „physiologische" Säurebildung des Speicheldrüsengewebes nach einem physiologischen Reiz ganz anders zu beurteilen ist als z. B. die Glykolyse des Krebsgewebes. Auf die hier bestehenden Unterschiede haben wir bereits an anderer Stelle hingewiesen [6].

Es ist nun höchst auffallend, daß sowohl die Reaktionsfähigkeit als auch die Säurebildung des „arbeitenden" Gewebes schon gegen eine Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration, die nur wenig über den Neutralpunkt hinausgeht, so außerordentlich empfindlich ist. Wir müssen deshalb annehmen, daß solche Säurewirkungen biologisch eine wichtige Rolle spielen, wobei nicht nur eine „Selbststeuerung des Stoffwechsels" auf diese Weise möglich erscheint, sondern (da ja die Reaktionsfähigkeit des Gewebes gegen Säure ebenso empfindlich war) auch eine automatische Regulation der Erregbarkeit bis zur Ruhigstellung des säurebildenden (arbeitenden oder kranken) Gewebes *.

[39] Warburg, O., K. Posener u. E. Negelein: Bioch. Z. **152**, 309, 1924; Lipmann, F.: Biochem. Z. **196**, 3 (1928).

* Da die säurebildenden Spaltprozesse in der Zelle wohl mehr oder minder streng lokalisiert sein werden, müssen an diesen Stellen weit höhere Aciditätsgrade für möglich gehalten werden, als sie im Gewebe gemessen werden können, zumal die gebildeten Säuren nur langsam diffundieren.

Die für diese Wirkung notwendige Wasserstoffionenkonzentration kann jedoch nur dann erreicht werden, wenn im Stoffwechsel schwer diffusible „fixe Säuren" gebildet werden, nicht aber bei einer noch so starken CO_2-Bildung. Abgesehen davon, daß es auf Grund der starken Diffusibilität der CO_2 niemals zu seiner so großen Anhäufung im Gewebe kommen kann, wie bei den „fixen Säuren", führen selbst hohe CO_2-Spannungen gar nicht zu entsprechenden Änderungen des p_H, was nach Hasselbalch [40] leicht zu berechnen ist. Demgemäß fanden wir auch in eigenen Versuchen, daß selbst eine Steigerung des CO_2-Partialdrucks auf 15% weder die Säurebildung noch die Erregbarkeit beeinträchtigte. Das p_H betrug unter diesen Umständen 7,0. Die Kohlensäure kann also erst dann die besprochenen Säurewirkungen entfalten, wenn der Bicarbonatgehalt, die Alkalireserve abgesunken ist. Das tritt aber wiederum nur dann ein, wenn im Stoffwechsel stärkere Säuren gebildet werden. So erkennen wir auch hier wieder die Bedeutung des von uns gefundenen qualitativen Unterschiedes zwischen dem Stoffwechsel ruhender und andererseits dem wachsender, arbeitender oder geschädigter Gewebe.

Bei den Versuchen, in denen wir die Wasserstoffionenkonzentration durch Steigerung des CO_2 erhöhten, fiel uns auf, daß unter diesen Umständen die Säurebildung nicht nur nicht gehemmt wurde, sondern sogar eher höher als normal war, während sie im Gegenteil dazu stark gehemmt wurde, wenn wir die gleiche Änderung der Wasserstoffionenkonzentration durch Senken des Bicarbonatgehaltes herbeiführten. Da wir solche Beobachtungen verschiedentlich machten, erscheint es uns auch hier unberechtigt, eine Steigerung des CO_2-Gehaltes oder eine Herabsetzung des Bicarbonatgehaltes einfach einer Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration gleichzusetzen, vielmehr scheint jeder dieser drei Faktoren seine besondere Bedeutung zu haben, vor allem aber anscheinend das Bicarbonat. Auf diese Fragen hoffen wir später zurückkommen zu können.

Isotonie.

Die besprochenen „Säure"-Wirkungen erfahren durch die Ergebnisse unserer Versuche mit hypo- und hypertonen Lösungen eine wesentliche Ergänzung. Während das Gewebe gegen Hypotonie in so weiten Grenzen unempfindlich war, daß berechtigte Zweifel an der Notwendigkeit einer engbegrenzten Isotonie entstanden, führten hypertone Lösungen selbst dann zu einem Verlust der Reaktionsfähigkeit des Gewebes, wenn die Hypertonie nur 20% betrug. Das ist um so auffälliger, als andere Änderungen in der Elektrolytzusammensetzung, mochten sie nun das Natrium, Kalium, Calcium oder Chlorid betreffen, selbst dann keine feststellbaren Störungen verursachten, wenn sie mehrere 100% betrugen, sofern die Isotonie gewahrt blieb.

[40] Hasselbalch, K. A.: Biochem. Z. **78**, 112 (1917).

Diese besondere Wirksamkeit der Hypertonie ist wahrscheinlich auch biologisch von großer Bedeutung, weil bei der Kohlehydratspaltung im Stoffwechsel „fixe Säuren" gebildet werden, die auch bei vollständiger Neutralisation osmotisch wirksam bleiben, zumal sie nur langsam diffundieren *. Danach muß jede Säurebildung („Glykolyse"), wenn sie nur genügend anhaltend und umfangreich ist (vor allem bei einer Insuffizienz des Kreislaufs), durch eine Anhäufung der osmotisch wirksamen Spaltprodukte zu einer Zunahme des osmotischen Druckes im Gewebe führen, und kann auf diese Weise die Reaktionsfähigkeit des Gewebes herabsetzen oder gar aufheben. Da nun, wie wir zeigen konnten, eine solche Säurebildung besonders im Stoffwechsel arbeitender oder geschädigter, kranker Gewebe auftritt, dagegen nicht im „Ruhestoffwechsel", erscheint die schon mehrfach herausgestellte qualitative Verschiedenheit dieser Stoffwechseltypen erneut bedeutsam. Vor allem wird damit das offenkundige Bemühen des Organismus, wenigstens im Ruhestoffwechsel möglichst nur osmotisch unwirksame Endprodukte (wie z. B. CO_2 oder Harnstoff) zu bilden, durch die beobachtete starke Wirkung der Hypertonie verständlich. Diese trifft übrigens keineswegs nur für das Speicheldrüsengewebe zu, vielmehr fanden bereits Overton[41] und ebenso Urano[42] am quergestreiften und Dale[43] am glatten Muskel, daß die Erregbarkeit des Gewebes schon bei geringgradiger Hypertonie erlischt, bei Hypotonie dagegen oft sogar gesteigert ist.

Berücksichtigen wir weiter, daß eine Säurebildung ja nicht nur zu einer Zunahme der osmotisch wirksamen Bestandteile im Gewebe führt, sondern auch zu einer Abnahme des Bicarbonatgehaltes, deren Folgen wir oben behandelt haben, und weiter zu Elektrolytverschiebungen, so erkennen wir die Bedeutung dieser Zusammenhänge für den Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit, also für das „Leben" des Gewebes. Diese Bedeutung wird wegen der geringen Diffusibilität der „fixen Säuren" vorwiegend eine „regionale" sein, während das leicht diffusible „flüchtige" Stoffwechselprodukt CO_2 eher „Fernwirkungen" entfalten kann, wie dies auch in zunehmendem Maße bekannt wird.

Mit der Bedeutung dieser Zusammenhänge für das physiologische und pathologische Geschehen (Ermüdung, Entzündung, Ödembildung) haben wir uns an anderer Stelle[21] kurz beschäftigt. Es mag reizvoll erscheinen, die beobachteten Wirkungen der Elektrolyte im Zusammenhang z. B. mit der Funktion der Nebennierenrinde oder mit den Vorgängen bei der Entzündung näher zu besprechen, allein wir glauben im Interesse einer kurzen Berichterstattung von solchen speziellen Ausführungen absehen zu sollen. Uns kam es darauf an, die Grundlagen herauszuarbeiten, weil sie uns für weitere physiologische, pathologische und pharmakologische Studien in gleicher Weise wichtig erschienen.

[41] Overton, E.: Pflügers Arch. **92**, 115 (1902). — [42] Urano, F.: Z. Biol. **32**, 459 (1908). — [43] Dale, H. H.: J. Physiol. (Brit.) **46**, 19 (1913).

* Vgl. Fußnote S. 659.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Wirkung des Tetanustoxins auf die glatten Muskelfasern und sympathischen Ganglien.

Von

K. Lissák und **W. Várterész.**

Mit 4 Textabbildungen (9 Einzelbildern).

(Eingegangen am 29. September 1941.)

Unsere Auffassung über den Wirkungsmechanismus des Tetanustoxins mußte im Lichte der neueren Ergebnisse der Nerven- und Muskelphysiologie mehr und mehr revidiert werden. Es sollen hier nicht diejenigen älteren und wohlbekannten Untersuchungen aufgezählt werden, die schließlich Meyer und Ransom (1) zu der Feststellung führten, daß das Tetanustoxin aus dem Blut und Geweben nach zentripetaler Wanderung längs der peripheren Nervenfasern das Zentralnervensystem erreicht. Die von Orr und Rows (2) vorgenommenen Versuche haben schon längst darauf hingewiesen, daß das Tetanustoxin auch mit dem perineuralen Lymphstrom ins Zentralnervensystem gelangen kann. Durch die systematischen Untersuchungen von Abel und Mitarbeitern (3) hat dann die Auffassung immer mehr in den Vordergrund zu treten, daß das Toxin ausschließlich durch den Blut- und Lymphstrom zum Zentralnervensystem und zu den entfernten Muskeln gelangt, wo es auf die zentralen Synapsen bzw. auf die neuromuskulären Synapsen oder Muskelzellen einwirkt. Nach Harvey (4) ist der Angriffspunkt des Tetanustoxins in den myoneuralen Synapsen zu suchen.

Auf Grund der chemischen Theorie der neuromuskulären Erregungsübertragung haben wir angenommen, daß das Toxin an den Nervenendigungen durch die Hemmung der Cholinesteraseaktivität die rasche Zerlegung des Azetylcholins verhindert. Wie es von unseren ersten, im Jahre 1940 mitgeteilten Untersuchungen (5) hervorging, ist der Azetylcholingehalt des tetanischen M. gastrocnemius höher, dessen Cholinesteraseaktivität dagegen niedriger als der des gegenseitigen normalen M. gastrocnemius. Der Azetylcholingehalt des N. ischiadicus blieb beiderseits unverändert. Im selben Jahr haben Göpfert und Schäfer (6) weitere wichtige Beweise für die periphere Entstehung des lokalen Tetanus mitgeteilt. Sie stellten fest, daß bei den Synapsen eine gesteigerte Azetylcholinproduktion bzw. eine Hemmung der Azetylcholinzersetzung besteht. Diese Hemmung soll etwa auf die Weise zustande kommen, daß die Cholinesterase durch das Toxin gebunden wird. Die genannten Autoren erklären den zentralen

Tetanus ebenfalls mit einer gestörten Azetylcholinzersetzung. Aus den von Fegler, Kowarzyk und Lelusz (7) vorgenommenen Versuchen geht hervor, daß das Tetanustoxin in den zentralen Synapsen dieselben Veränderungen hervorruft, die in den neuromuskulären Synapsen festgestellt worden waren, indem nach Behandlung mit Tetanustoxin der Azetylcholingehalt des Zentralnervensystems bedeutend zunimmt.

In folgenden Versuchen haben wir die Wirkung des Tetanustoxins auf die glatten Muskeln und sympathischen Ganglien untersucht.

Methodik.

Die Versuche wurden an Katzen vorgenommen. In Äthernarkose nebst sterilen Kautelen haben wir in die Kapsel des linken Ganglion cerv. sup. 0,05 ccm Tetanustoxin (Phylaxia 0,000002 Mäuseeinh.) injiziert, so daß das Ganglion und dessen Gefäßsystem unverletzt blieb. In anderen Versuchen wurde in die linke Nickhaut 0,1 ccm Toxin injiziert. Nach einer Inkubationszeit von 2—5 Tagen wurden in Chloralosenarkose (0,11 g/kg i.v.) beiderseits die N. sympathici cerv. zerquetscht und auf den peripheren präganglionären Teil gut isolierte Silberelektroden gelegt. Zur Reizung benutzten wir eine Kondensatorreizvorrichtung, deren Ladungsstrom 0—60 Volt, Kapazität zwischen 0,002—2 Mikrofarad, veränderbar war. Die isotonen Kontraktionen der Nickhäute wurden kymographisch registriert. Der Rand der Nickhäute wurde mittels Seraphine mit Schreibern von gleicher Vergrößerung (10fach) und Belastung (5 g) verbunden. Außer der präganglionären Reizung haben wir vergleichend an beiderseitigen Nickhäuten die Wirkung des in die V. femoralis injizierten Adrenalins und Azetylcholins untersucht.

Versuche an der mit Tetanustoxin behandelten Nickhaut.

Abb. 1 zeigt einen Versuch, wo in die linke Nickhaut 2 Tage vorher Tetanustoxin injiziert wurde. An der mit Tetanustoxin behandelten Nickhaut sind bei Reizung mit verschiedener Frequenz bei 0,5 mikrofaradischem Kondensator und 6 Volt Ladungsstrom bedeutend größere Kontraktionen aufgetreten als an normalen. Bei Änderung der Kondensatorkapazität von 2 bis 0,002 MF, die Frequenz ständig auf 10, Ladungsstrom auf 10 Volt belassen, erhielten wir dieselben Ergebnisse. Aus Abb. 2 geht hervor, daß an der mit Toxin behandelten Nickhaut auch auf Adrenalin und Azetylcholin größere Kontraktionen aufgetreten sind als an der normalen Kontrollnickhaut.

Wir haben in den Kontrollversuchen 0,2 ccm sterile Nährbouillon in die linke Nickhaut injiziert und die Reizbarkeit 2—4 Tage nach der Injektion untersucht. Die Kontraktionen der mit Bouillon behandelten Nickhaut waren so auf elektrische wie auch chemische Reizung bedeutend niedriger als die der normalen Seite. Die Behandlung mit toxinfreier

Nährbouillon hat also die Reizbarkeit der Testobjekte in entgegengesetzter Richtung beeinflußt, wie die Injektion des Tetanustoxins.

Es kann also auf Grund der einander vollkommen übereinstimmenden 10 Versuchsresultate festgestellt werden, daß auf die Wirkung des Tetanustoxins die Erregbarkeit der glatten Muskeln der Nickhaut bedeutend zunimmt. Diese rein periphere Wirkung des Toxins ist von besonderer Bedeutung, da seit den Versuchen von Rosenblueth und Bard (8) die Nick-

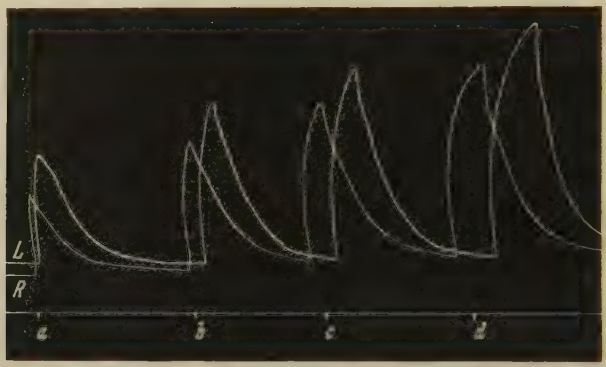


Abb. 1. Katze in Chloralosenarkose. Isotonische Kontraktionen der Nickhäute. *L* linke, *R* rechte Nickhaut. In die linke Nickhaut wurde 48 Stunden vor dem Versuch 0,1 ccm Tetanustoxin injiziert. Reizung des Halssympathicus mit 0,5 MF-Kondensator, 6 Volt Ladungsstrom. a) 10; b) 20; c) 30; d) 50 Reize.

Abb. 2. Dieselbe Katze wie auf Abb. 1. a) 5 γ Adrenalin (a); b) 10 γ a; c) 25 γ a; d) 50 γ a; e) 100 γ a; f) 50 γ Azetylcholin.

haut als adrenergischer Effektor bekannt ist. Das Wesen der Toxinwirkung kann demnach keineswegs als eine Störung des Azetylcholin-Cholinesterase-systems betrachtet werden.

Versuche an den mit Tetanustoxin behandelten Ganglion cerv. sup.

In diesen Versuchen haben wir die Wirkung des Tetanustoxins auf die im Ganglion cerv. sup. befindlichen Synapsen untersucht. Wenn man annimmt, daß in den sympathischen Ganglien die erregungsübertragende

Substanz das Azetylcholin ist und daß das Tetanustoxin ihre Wirkung durch die Störung des Azetylcholin-Cholinesterasesystems entfaltet, so ist es zu erwarten, daß auf präganglionäre Reizung die Wirkung des Toxins auf den empfindlichen Mechanismus der Synapsen unbedingt zum Vorschein kommt.

Abb. 3 zeigt einen Versuch, bei dem beiderseits die Gangl. cerv. sup. mit Kondensatorentladungen von unveränderter Kapazität und Ladungsstrom präganglionär gereizt wurden. Auf der mit Toxin behandelten Seite waren die Kontraktionen der Nickhaut kleiner als auf der normalen Seite. Bei demselben Tier konnten bei Reizung mit Kondensatoren von verschiedener Kapazität die Veränderungen der Erregbarkeit gut beobachtet werden. Bei „g" kontrahierte sich z. B. die Nickhaut auf der mit Toxin behandelten linken Seite bei Reizung mit 0,01 MF nicht mehr. In den

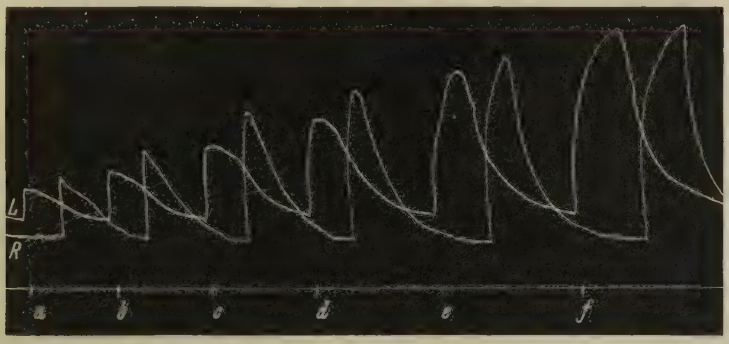


Abb. 3. Katze in Chloralosenarkose; isotonische Kontraktionen der Nickhäute. 48 Stunden vor dem Versuch wurden in das linke Gangl. cerv. sup. 0,05 ccm Tetanustoxin injiziert. Reizung des Halssympathicus mit 0,5 MF-Kondensator, 6 Volt Ladungsstrom. a) 3; b) 5; c) 10; d) 15; e) 30; f) 60 Reize.

Kontrollversuchen, wo sterile Nährbouillon in das Ganglion injiziert wurde, hat letzteres dem Toxin ähnliche depressive Wirkung ausgeübt. Laut diesen Kontrollversuchen ist die auf die ganglionäre Erregungsübertragung ausgeübte depressive Wirkung des Tetanustoxins unspezifisch und muß einer durch die Bouillon hervorgerufenen chemischen oder mechanischen Schädigung zugeschrieben werden. Es soll an dieser Stelle erwähnt werden, daß Luco und Lanari (9) bei Bestreichung des Gangl. cerv. sup. mit Strychnin ähnliche depressive Wirkung beobachtet haben. Aus den Versuchen von Nachmansohn (10) ist aber bekannt, daß das Strychnin auf die Cholinesteraseaktivität stark hemmend wirkt. Nach Nachmansohn ist diese hemmende Wirkung genügend groß, um die Symptome der Strychninvergiftung mit einer Antiesterasewirkung erklären zu können. Diese Annahme wird auch von Loewi (11) bestätigt durch die Feststellung, daß der Azetylcholingehalt im Zentralnervensystem von Fröschen nach prolongierten Strychninkrämpfen erhöht wird. Unsere gegenwärtigen

Untersuchungen weisen aber darauf hin, daß das Tetanustoxin — im Gegensatz zu den an quergestreiften Muskeln beobachteten Verhältnissen — im Gangl. cerv. sup. das Azetylcholin-Cholinesterasesystem nicht beeinflußt, da im Azetylcholingehalt des mit Toxin behandelten und normalen Ganglions kein nennenswerter Unterschied gefunden wurde.

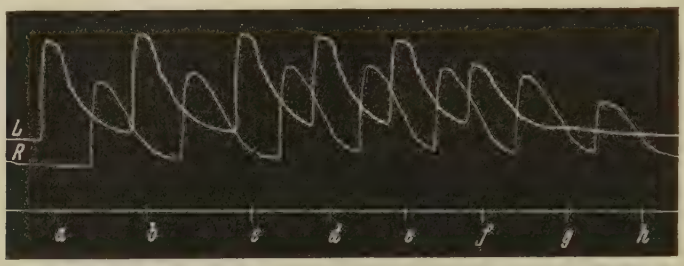


Abb. 4. Dieselbe Katze wie auf Abb. 3. Reizung mit 10 Reizen, 10 Volt Ladungsstrom und ändernde Kondensatorkapazität. a) 2 MF; b) 1 MF; c) 0,5 MF; d) 0,1 MF; e) 0,05 MF; f) 0,02 MF; g) 0,01 MF; h) 0,002 MF.

Zusammenfassung.

Injektion von Tetanustoxin verursacht eine Steigerung in den Kontraktionen der Katzen-Nickhaut sowohl auf Kondensatorenentladungen wie auch auf chemische Reize (Adrenalin, Azetylcholin). Auf die Wirkung des Toxins wird also auch die Erregbarkeit der glatten Muskeln erhöht. Auf das Ganglion cerv. sup. übt das Toxin eine depressive Wirkung aus; letztere scheint aber unspezifisch zu sein und soll der das Toxin enthaltenden Nährbouillon zugeschrieben werden. Im Azetylcholingehalt der behandelten und unbehandelten Ganglien konnte kein Unterschied beobachtet werden.

Literatur.

1) Meyer, H., u. F. Ransom: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **49**, 369 (1903). — 2) Orr, D., u. R. G. Rows: Edinburgh med. J. **17**, 78 (1916). — 3) Abel, J. J., W. M. Firor u. W. Chalian: Johns Hopk. Hosp. Bull. **63**, 373 (1938). — 4) Harvey, A. M.: J. Physiol. (Brit.) **96**, 348 (1939). — 5) Lissák, K., u. J. Pásztor: Ber. Physiol. usw. **121**, 666 (1940). — 6) Göpfert, H., u. H. Schäfer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 93 (1940). — 7) Fegler, J., H. Kowarzyk u. Z. Lelusz-Lachowicz: Klin. Wschr. **17**, 240, 667 (1938). — 8) Rosenblueth, A., u. P. Bard Amer. J. Physiol. **100**, 537 (1932). — 9) Luco, J. V., u. A. Lanari: Ebenda **126**, 277 (1939). — 10) Nachmansohn, D.: C. r. Soc. Biol. **129**, 941 (1938). — 11) Loewi, O.: Die Naturw. **25**, 526 (1937).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Azetylcholinempfindlichkeit und Vitamin B_1.

Von

J. Martin und **K. Lissák.**

Mit 6 Textabbildungen (11 Einzelbildern).

(Eingegangen am 29. September 1941.)

Nach Binet und Minz (1) wird bei in vitro Reizung cholinergischer Nerven neben Azetylcholin eine Substanz frei, die den Blutegelrückenmuskel gegen Azetylcholin sensibilisiert. Die von Minz (2, 3) vorgenommenen weiteren Untersuchungen haben darauf hingewiesen, daß diese Substanz mit dem Vitamin B_1 identisch ist. Auch v. Muralt (4) konnte bei Reizung motorischer Froschnerven nachweisen, daß neben Azetylcholin auch eine andere Substanz frei wird, die mit dem Aneurin identifiziert werden kann. Nach Minz (5) wird die Azetylcholinempfindlichkeit der Darmmuskulatur durch Aneurin stark gesteigert, welche Feststellung auch von E. und R. Abderhalden (6) bestätigt wurde. Glick und Antopol (7) haben über die anticholinesterase Wirkung des Thiamins berichtet und zugleich hervorgehoben, daß die Cholinesterase hemmende Wirkung im Serum nur mit so hohen Thiaminkonzentrationen hervorgerufen werden kann, in deren es bekanntlich im Organismus nicht vorhanden ist.

In einer vorherigen Arbeit [Lissák (8)] wurde die Azetylcholinempfindlichkeit isolierter Froschherzen nach Durchströmung mit Lösungen, in denen cholinergische Nerven (Katzenvagus und -ischiadicus, Froschischiadicus) gereizt worden sind, untersucht. In diesen Versuchen wurde aber keine sensibilisierende Wirkung gegen Azetylcholin beobachtet; ebensowenig konnte die Azetylcholinempfindlichkeit mit Vitamin B_1 und B_2, sowie mit Hefeextrakte gesteigert werden. Wir haben diese, den bisher veröffentlichten Angaben vollkommen widersprechenden Versuchsergebnisse mit der Verschiedenheit der Testobjekte erklärt. Diese Annahme wurde auch durch andere Beobachtungen unterstützt. So haben die von Führer (9) vorgenommenen Versuche darauf hingewiesen, daß Physostigmin die Azetylcholinempfindlichkeit der Blutegelmuskulatur stark erhöht, die der Froschherzen dagegen praktisch unverändert läßt. An Froschherzen wird im allgemeinen die negativ inotrope Wirkung nur verlängert, aber nicht bedeutend verstärkt [Loewi und Navratil (10)].

Kaiser (11) konnte bei an Straub-Herzen vorgenommenen Versuchen ebenfalls feststellen, daß das Aneurin auch in höheren Konzentrationen auf die Herzen wirkungslos ist, weiter, daß dieselbe Substanz die negativ

inotrope und chronotrope Wirkung des Azetylcholins verringert. Auch Hecht und Weese (12) fanden das Vitamin B_1 wirkungslos auf Straub-Herzen und auf isoliertem Kaninchen- und Meerschweinchen-Dünndarm. Die Versuchsergebnisse von Brücke und Sarkander (13) unterstützen die von Binet veröffentlichten Beobachtungen, nämlich daß die Azetylcholinempfindlichkeit der Blutegelmuskulatur durch Aneurin erhöht wird; sie stellen auch fest, daß bei Kaninchen nach Aneurin die Wirkung der Vagusreizung erhöht wurde. In der letzten Zeit berichtete Brecht (14) von an Läwen-Trendelenburg-Präparaten vorgenommenen Versuchen, in welchen das Aneurin die gefäßverengernde Wirkung des Azetylcholins und Adrenalins gesteigert hat.

Im ersten Teil unserer Versuche haben wir den Einfluß des Vitamin B_1 auf die Azetylcholinempfindlichkeit von Säugetierherzen, im zweiten Teil die Azetylcholinempfindlichkeit von mit Vitamin B_1 längere Zeit hindurch behandelten und B_1-avitaminotischen Rattenherzen untersucht. In einigen Fällen wurde außerdem der Azetylcholingehalt B_1-avitaminotischer und normaler Rattenherzen bestimmt.

Methodik.

Die Versuche wurden an nach Langendorff mit Tyrodelösung durchströmten Ratten- und Meerschweinchenherzen vorgenommen. Das Azetylcholin haben wir in den angegebenen Mengen in die Herzkanüle injiziert, wo die Azetylcholinlösung ungefähr auf das Doppelte verdünnt wurde. Bei den Untersuchungen über die Wirkung des Vitamin B_1 wurde letzteres ebenfalls in die Herzkanüle injiziert oder die isolierten Säugetierherzen wurden mit Vitamin B_1-Lösungen dauernd durchströmt. Der Azetylcholingehalt der B_1-avitaminotischen und normalen Herzen wurde mit dem von Lissák (15) mitgeteilten Physostigmin-Ringer-Dialysierungsverfahren bestimmt. Das Herz wird nach Tötung der Tiere herausgeschnitten, mit Ringerlösung abgespült, auf Filtrierpapier getrocknet, mit Torsionswaage abgewogen und extrahiert. Zur Extraktion haben wir die Herzen mit Seesand und bicarbonatfreier 1 : 50000 Physostigmin enthaltender Ringerlösung zu feinem Brei zerrieben (2 ccm Ringerlösung auf 100 mg Herzmuskel). Die so bereiteten Extrakte wurden gegen gleiche Mengen bicarbonatfreier Physostigmin-Ringerlösung im Schüttelapparat durch Cellophanmembrane 2 Stunden lang dialysiert. Den Azetylcholingehalt der verschiedenen Dialysatverdünnungen haben wir an Straub-Herzen bestimmt. Zu den Versuchen wurden die Präparate „Betabion" forte (Merck) und „Betaxin" forte (Bayer) benutzt.

A. Versuche an normalen Ratten- und Meerschweinchenherzen.

Es wurde vor allem die Wirkung des Vitamin B_1 auf isolierte Ratten- und Meerschweinchenherzen untersucht. An Meerschweinchenherzen konnte schon auf 1 γ Vitamin B_1 eine ausgeprägte, auf 10 γ eine ent-

sprechend stärkere negative Wirkung beobachtet werden. An Rattenherzen war diese depressive Wirkung bedeutend geringer, hier hatte 10 γ Vitamin B_1 ungefähr die gleiche negative Wirkung ausgeübt wie 1 γ (s. Abb. 1). Bei Durchströmung mit in verschiedenen Konzentrationen Vitamin B_1 enthaltenden Tyrodelösungen (1 : 10000 bis 1 : 1000000) konnte an Rattenherzen bei einer Konzentration von 1 : 100000 eine manifeste depressive Wirkung beobachtet werden.

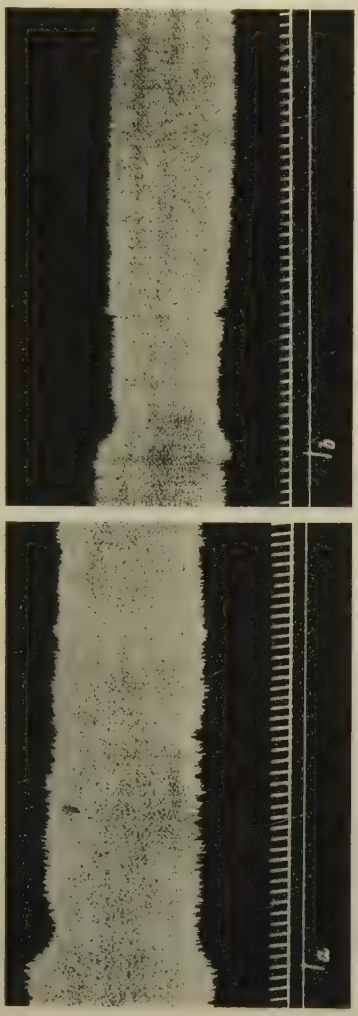


Abb. 1. Isoliertes Rattenherz. a) 1 γ Vitamin B_1; b) 10 γ Vitamin B_1. Das Signal zeigt auf den Abbildungen 6 Sekunden Zeitabschnitte.

Bei den Versuchen, wo wir den Einfluß des Vitamin B_1 auf die Azetylcholinempfindlichkeit untersuchten, wurde vor allem die Wirkung verschiedener Azetylcholinmengen während Durchströmung mit normaler, dann mit Vitamin B_1 enthaltender Tyrodelösung untersucht. Aus den Versuchen geht hervor, daß die Azetylcholinempfindlichkeit sowohl an Ratten- wie auch an Meerschweinchenherzen auch nach längerer Zeit andauernder Vitamin B_1-Durchströmung unverändert bleibt. Die Abb. 2 zeigt einen dieser an Rattenherzen vorgenommenen Versuche. Die Azetylcholinempfindlichkeit blieb auch dann unverändert, wenn unmittelbar nach Verschwinden der Azetylcholinreaktion 1—10 γ Vitamin B_1 in die Herzkanüle injiziert und danach die gleiche Azetylcholinmenge reinjiziert wurde (siehe Abb. 3B).

B. Versuche an Herzen von längere Zeit hindurch mit Vitamin B_1 behandelten Ratten.

5 normale Ratten erhielten subcutan fünfmal in Abständen von 3 Tagen 5—5 mg Vitamin B_1. Letzte Injektion 10 Stunden vor dem Versuch. Die Azetylcholinempfindlichkeit der so behandelten Herzen zeigte keinen wesentlichen Unterschied zu den normalen (s. Abb. 3).

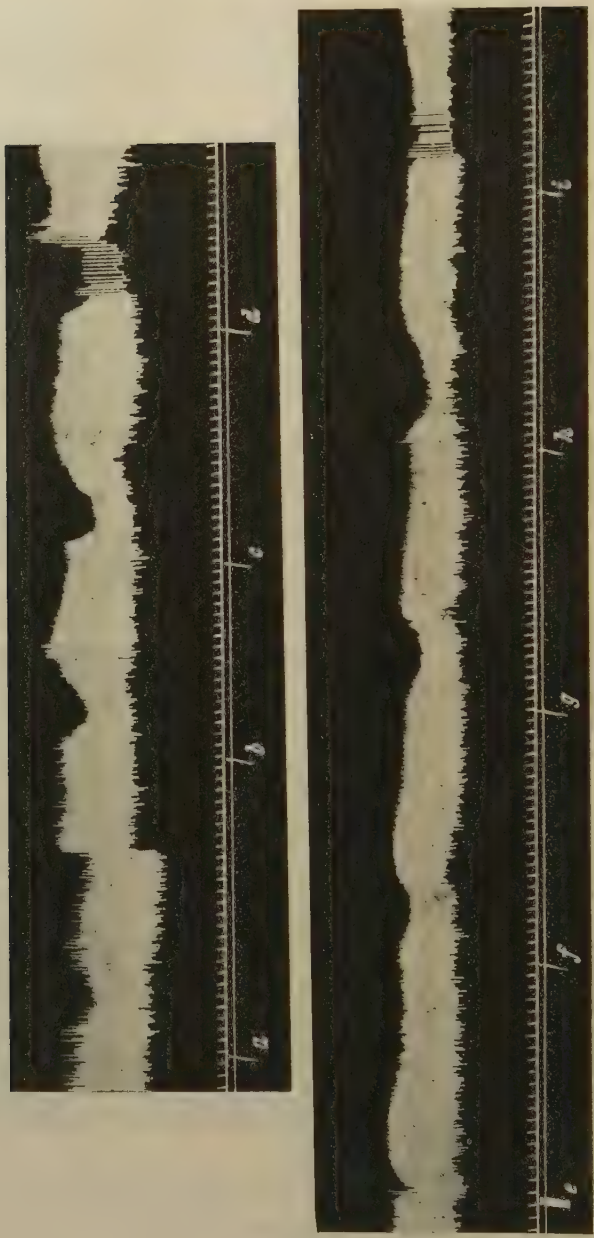


Abb. 2. Isoliertes Rattenherz. Zwischen e und l mit 1 : 500000 Vitamin B_1 enthaltender Tyrodelösung durchströmt. a) 0,001 γ Azetylcholin (Ach); b) 0,01 γ Ach; c) 0,1 γ Ach; d) 1 γ Ach; e) Durchströmung mit 1 : 500000 Vitamin B_1 enthaltender Tyrodelösung; f) 0,001 γ Ach; g) 0,01 γ Ach; h) 0,1 γ Ach; i) 1 γ Ach.

C. Versuche an Herzen von B_1-avitaminotischen Ratten.

Die Versuche wurden an 15—15 B_1-avitaminotischen und normalen Ratten durchgeführt. Zu den Versuchen haben wir Ratten vom gleichen

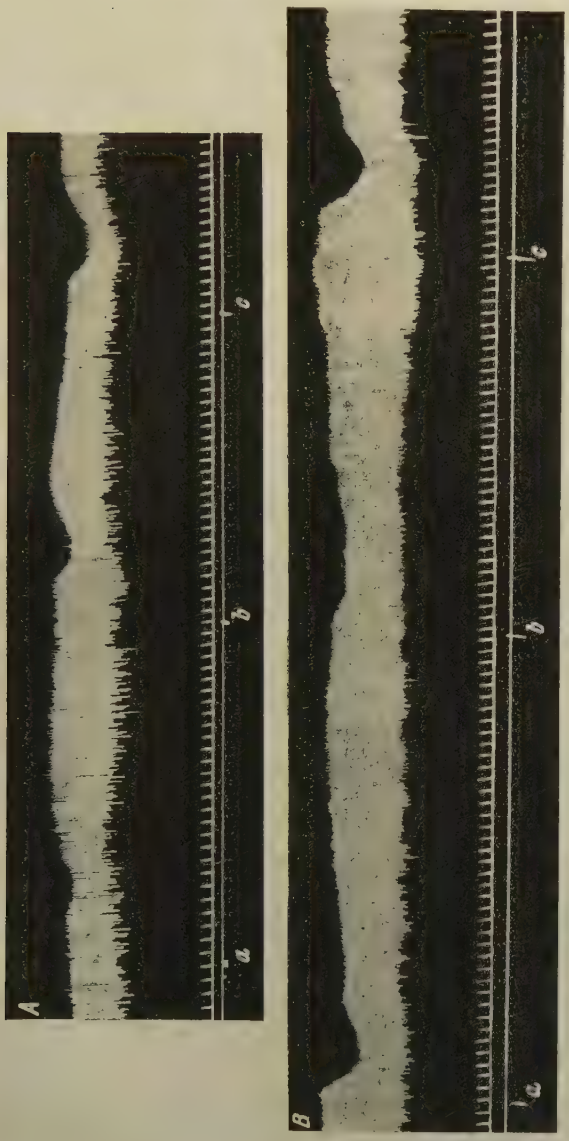


Abb. 3. A. Isoliertes Herz einer mit 5×5 mg Vitamin B_1 behandelter Ratte. a) 0,001 γ Ach; b) 0,01 γ Ach; c) 0,1 γ Ach.
B. Isoliertes Herz normaler Kontrollratte. a) 0,01 γ Ach; b) 10 γ Vitamin B_1; c) 0,01 γ Ach.

Alter und ungefähr gleichem Gewicht benutzt. 15 Ratten erhielten die folgende B_1-freie Diät:

Casein	18%	Lebertran	2%
Reisstärke	60%	Autoklavisierte Hefe	4%
Schweinefett	12%	Salzgemisch (Mc Collum Nr. 185)	4%

Die Kontrolltiere wurden an gemischter Kost gehalten. Sämtliche Tiere waren jeden dritten Tag vor der Fütterung abgewogen und ihr

Gewicht im Koordinatensystem aufgezeichnet. Abb. 4 zeigt die Gewichtskurven je einer avitaminotischen und normalen Ratte. Bei den an B_1-vitaminfreier Diät gehaltenen Ratten sind in der fünften Woche neben dem Gewichtsabfall schon die schwersten Symptome der B_1-Avitaminose aufgetreten. In diesem Stadium haben wir die Versuche durchgeführt. Es konnte bei Durchströmung der Herzen von B_1-avitaminotischen und normalen Ratten mit Tyrodelösung in der Azetylcholinempfindlichkeit kein Unterschied beobachtet werden. Abb. 5 zeigt einen dieser Versuche.

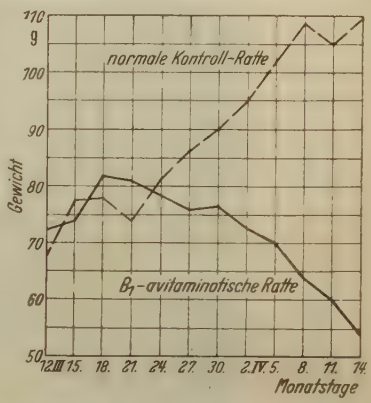


Abb. 4.

Wir haben außer diesen Untersuchungen auch den Azetylcholingehalt je zweier Herzen von B_1-avitaminotischen und Kontrollratten bestimmt. Der Azetylcholin-g-Äquivalent der avitaminotischen

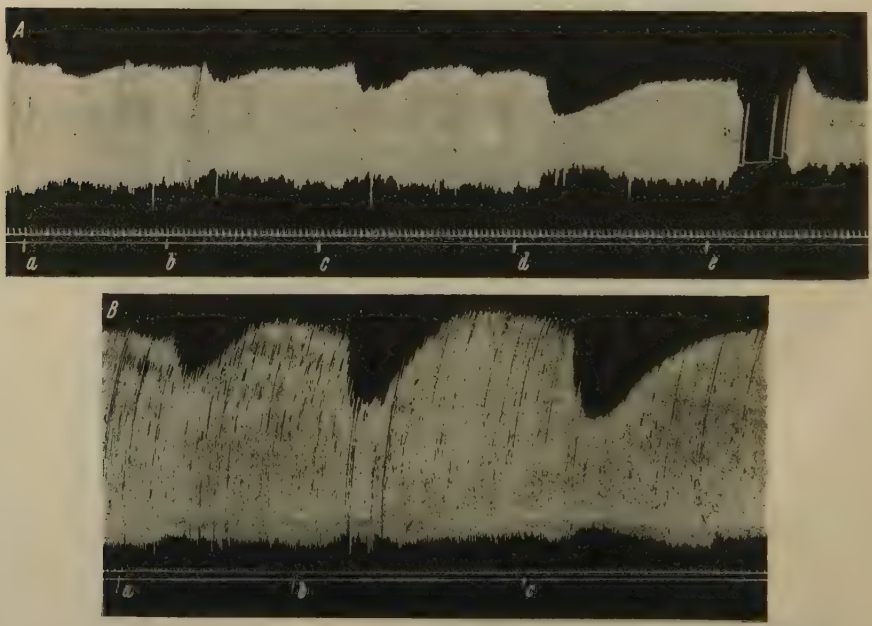


Abb. 5. A. Isoliertes Herz B_1-avitaminotischer Ratte. a) 0,0001 γ Ach; b) 0,001 γ Ach; c) 0,01 γ Ach; d) 0,1 γ Ach; e) 1 γ Ach. B. Isoliertes Herz normaler Kontrollratte. a) 0,001 γ Ach; b) 0,01 γ Ach; c) 0,1 γ Ach.

Herzen war 2,28 bis 2,80 γ, während der von normalen Herzen 0,25 bis 0,28 γ betrug. Abb. 6 zeigt einen Teil der an Straub-Herzen durchgeführten Azetylcholinbestimmungen.

In der Versuchsreihe A mitgeteilte Untersuchungen bekräftigen die an Straub-Herzen erhaltenen Ergebnisse, nämlich, daß durch Aneurin die Azetylcholinempfindlichkeit weder an Straub-Herzen, noch an Meerschweinchen- und Rattenherzen erhöht wird. Merkwürdig ist, daß auch an den mit Aneurin längere Zeit hindurch behandelten und B_1-avitaminotischen Rattenherzen die Azetylcholinempfindlichkeit unverändert geblieben ist. Nach Minz (3) spielt das Aneurin, als Co-Ferment des Azetylcholin-Cholinesterase-Systems, im humoralen Mechanismus der Reizübertragung eine Rolle; er ist der Meinung, daß die Syndromen des Nervensystems bei Beriberi mit dem Mangel dieses Co-Ferments erklärt werden können. Nach

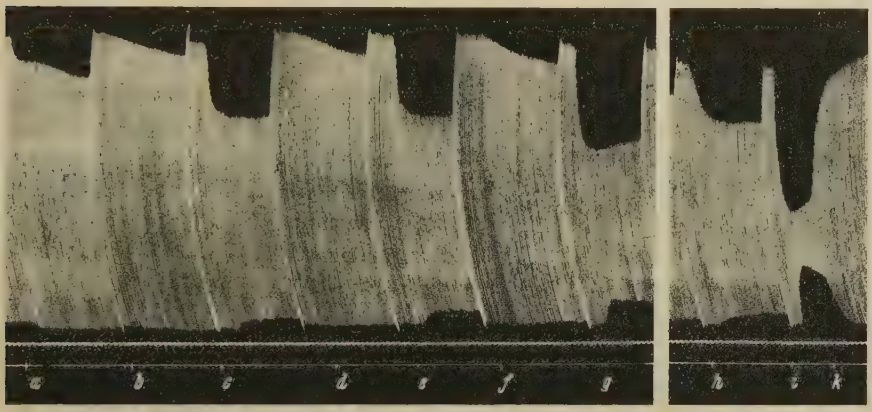


Abb. 6. Azetylcholingehalt der Herzextrakte von B_1-avitaminotischen und normalen Kontrollratten an Straub-Herzen bestimmt. Signal zeigt 4 Sekunden Zeiträume. a) 0,005 γ Ach; b) 0,001 γ Ach; c) 10mal Verdünnung des B_1-avitaminotischen Herzextraktes Nr. 1; d) 10mal Verdünnung des normalen Herzextraktes Nr. 1; e) 10mal Verdünnung des B_1-avitaminotischen Herzextraktes Nr. 2; f) 10mal Verdünnung des normalen Herzextraktes Nr. 2; g) 0,02 γ Ach; h) 0,01 γ Ach; i) 5mal Verdünnung des B_1-avitaminotischen Herzextraktes Nr. 1; k) 10 γ Atropin.

v. Muralt (16) spielt das Vitamin B_1 als Cocarboxylase eine wichtige Rolle im Mechanismus der Reizübertragung. Wenn man aber in Betracht nimmt, daß das Azetylcholin auf die Effektorzellen der Herzen und nicht auf die autonomen Nervenendigungen wirkt [Lissák und Martin (17)], so kann man auch nicht erwarten, daß sich die Empfindlichkeit der Herzmuskelzellen gegen eine exogene Azetylcholinzufuhr verändern soll. Auf Grund derselben Hypothese könnte man vielmehr Unterschiede in den Folgen der Vagusreizung an normalen und B_1-avitaminotischen Tieren erwarten, wo das aus den Nerven an den Nervenendigungen freigesetzte Azetylcholin auf die Effektorzellen einwirkt.

Der ungefähr zehnmal höhere Azetylcholingehalt der B_1-avitaminotischen Rattenherzen scheint neben einer Cholinesterase hemmenden Wirkung des Vitamin B_1 zu sprechen. Eine hemmende Wirkung konnte aber in vitro nicht beobachtet werden.

Zusammenfassung.

Die Azetylcholinempfindlichkeit von isolierten Meerschweinchen- und Rattenherzen wird durch Vitamin B_1 nicht gesteigert. Ebenso blieb die Azetylcholinempfindlichkeit der isolierten Herzen auch bei B_1-avitaminotischen und Vitamin B_1 mit längere Zeit hindurch behandelten Ratten unverändert. Der Azetylcholin-g-Äquivalent normaler Rattenherzen schwankt zwischen 0,25 und 0,28 γ, der von B_1-avitaminotischen Rattenherzen zwischen 2,28 und 2,80 γ. Der bedeutend höhere Azetylcholin-g-Äquivalent scheint neben einer Cholinesterase hemmenden Wirkung des Vitamin B_1 zu sprechen. Eine hemmende Wirkung konnte aber in vitro nicht beobachtet werden.

Literatur.

1) Binet, L., u. B. Minz: Arch. internat. Physiol. **42**, 281 (1936). — 2) Minz, B.: C. r. Soc. Biol. **127**, 1251 (1938). — 3) Minz, B.: Presse Medicale, Paris **46**, 1406 (1938). — 4) v. Muralt, A.: Naturw. **17**, 265 (1939). — 5) Minz, B.: C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 982 (1937). — 6) Abderhalden, E., u. R. Abderhalden: Pflügers Arch. **240**, 388 (1938). — 7) Glick, D., u. W. Antopol: J. Pharmacol. (Am.) **65**, 389 (1939). — 8) Lissák, K.: Amer. J. Physiol. **127**, 263 (1939). — 9) Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1918). — 10) Loewi, O., u. E. Navratil: Pflügers Arch. **214**, 689 (1926). — 11) Kaiser, P.: Ebenda **242**. 504 (1939). — 12) Hecht, G., u. H. Weese: Klin. Wschr. **16**, 414 (1937). — 13) Brücke, F., u. H. Sarkander: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 218 (1940). — 14) Brecht, K.: Pflügers Arch. **243**, 716 (1940). — 15) Lissák, K.: Amer. J. Physiol. **125**, 778 (1939). — 16) v. Muralt, A.: Sitzgsber. physik. med. Soc. Erlangen **71**, 175 (1940). — 17) Lissák, K., u. J. Martin: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 558 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XX. Mitteilung: Ortho-Aminophenol und Nitrosobenzol*.

Von

Christian Petersen.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. November 1941.)

I.

Die Bildung von Methämoglobin bei der Vergiftung mit Anilinderivaten ist von großer praktischer Bedeutung. Wie bekannt, bilden die aromatischen Amine und Nitroverbindungen in vitro nicht oder nur langsam Methämoglobin, doch werden sie im physiologischen Geschehen rasch in eine wirksame Form umgewandelt. Bei dieser Umwandlung handelt es sich nun sicher nicht um eine einfache Umsetzung des aromatischen Körpers mit dem Hämoglobin, sondern dieser wirkt irgendwie katalytisch, da oft eine weit größere Menge Methämoglobin entsteht, als einer einfachen äquivalenten Umsetzung entsprechen würde.

In einer Zusammenfassung hat Heubner (1) kürzlich über die hier in Frage kommenden Kreisprozesse berichtet. Früher hatte er selbst (2) für Aminophenol gezeigt, daß es auch in vitro katalytisch wirkt. Als unmittelbaren Methämoglobinbildner sah er das Chinonimin an, das aus dem Para-Aminophenol durch Oxydation gebildet wird. Nach seiner damaligen Meinung tritt das Chinonimin mit dem Hämoglobin in Reaktion, oxydiert dieses zu Methämoglobin und reduziert sich dabei wieder zu Para-Aminophenol. Von Ellinger (3) und Lipschitz (4) dagegen wurde ein Prozeß in den Vordergrund gestellt, bei dem das Phenylhydroxylamin die entscheidende Rolle spielt. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung stellten Schwedtke (5), Heubner und Lo Sing (6), v. Issekutz jun. (7) und Jung (8) an. Während die ersten drei glaubten, dem Phenylhydroxylamin eine mehr sekundäre Bedeutung einräumen zu müssen, ging aus v. Issekutz' und mehr noch Jungs Versuchen hervor, daß für den Vorgang im Tierkörper vornehmlich das Phenylhydroxylamin von Wichtigkeit ist.

Jedoch bleibt zunächst noch die Frage offen, ob mit ihm nicht das zweite Oxydationsprodukt des Anilins in Konkurrenz tritt, das zur Chinoniminbildung befähigt ist, nämlich das Ortho-Aminophenol, dessen Reaktionsfähigkeit wohl noch als größer einzuschätzen ist als die des Para-

* D 11.

Aminophenols. Nach den Grundsätzen der Benzolchemie ist ja anzunehmen, daß unter den dafür geeigneten Bedingungen stets die Para- und Orthoverbindungen gleichzeitig nebeneinander entstehen.

Meine eigenen Versuche, die stets an Katzen vorgenommen wurden, knüpften an diese Lage des Problems an. Sie lagen zeitlich vor denen von Jung. Ich prüfte einmal das Ortho-Aminophenol in der Weise, daß ein Vergleich mit den Untersuchungen bequem möglich war, die v. Issekutz über das Para-Aminophenol angestellt hatte. Zweitens untersuchte ich Intensität und Zeitdauer der Methämoglobinbildung durch Nitrosobenzol, da diese Substanz als Partner eines Kreisprozesses für das Phenylhydroxylamin in Frage kommt. Die entsprechenden Untersuchungen mit dem Phenylhydroxylamin hatte bereits ebenfalls v. Issekutz unternommen.

Im Anschluß an die hier zu berichtenden Versuche stellte dann Jung an Katze und Ratte fest, daß tatsächlich dem Nitrosobenzol eine entscheidende Stellung bei der katalytischen Umsetzung zukommt. Später noch hat durch einen rein chemischen Befund von Hertel und Lebok (9) unsere Anschauung über den Reaktionsmechanismus bei der Methämoglobinbildung eine wesentliche Stütze erhalten, worauf gleichfalls im folgenden eingegangen werden soll.

Anders als Jung verabreichte ich das Nitrosobenzol subcutan in ätherischer Lösung. Ein Vergleich meiner Befunde mit den seinigen wird Aufschluß über die Bedeutung der Resorption für den Vergiftungsverlauf geben.

II.

Die 2,5—5,2 kg wiegenden Katzen erhielten zur Narkose 0,5 g Urethan je kg Körpergewicht subcutan. In bestimmten Zeitabständen wurden etwa 2 ccm Blut aus der unter Ätherzugabe präparierten Carotis communis entnommen. Nach der ersten Blutentnahme wurde der zu untersuchende Methämoglobinbildner in Äthyläther gelöst subcutan injiziert. Die weiteren Blutproben wurden dann meistens $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2 usw. Stunden später gewonnen. Das entnommene Blut wurde mit Glasperlen defibriniert und mit destilliertem Wasser hämolysiert. Die Methämoglobinbestimmung wurde nach der photometrischen Methode (10) mit dem von Havemann (11) beschriebenen lichtelektrischen Meßinstrument ausgeführt.

III.

a) Ortho-Aminophenol.

Während v. Issekutz das Para-Aminophenol in neutraler Lösung subcutan gab, löste ich das Ortho-Aminophenol in Äther und injizierte es subcutan. Aus der Abb. 1 sind die Intensität und die Geschwindigkeit der Methämoglobinbildung ersichtlich. Im untersuchten Dosisbereich von 1—4 mg/kg wurde das Maximum der Methämoglobinbildung jeweils in

der zweiten Stunde erreicht, dann sanken die Werte je nach der Dosisstärke mehr oder weniger langsam und stetig herab. Bei den Dosen von 1—2 mg/kg liegen die Höhepunkte zwischen 1,2 und 1,8% Methämoglobin (absolut), während sie bei den Dosen von 3 und 4 mg/kg bei 5,4 und 6,3% Methämoglobin zu finden sind. Bei Betrachtung der Dosenwirkungskurve des Ortho-Aminophenols (Abb. 2) fällt zwischen 2 und 3 mg/kg ein deut-

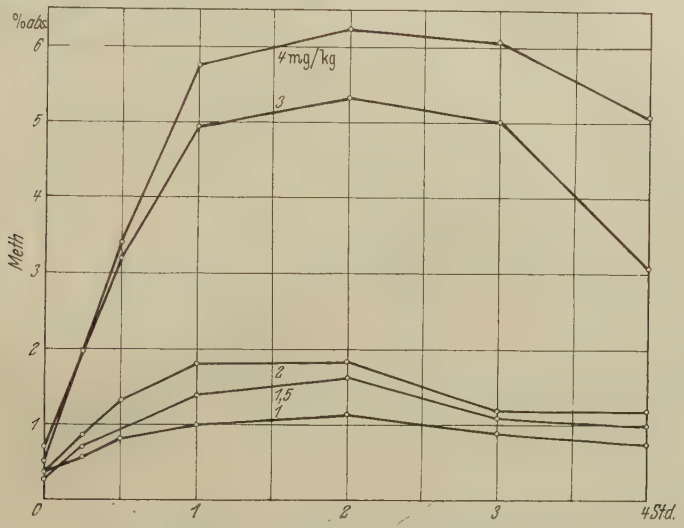


Abb. 1. Ordinate: g Methämoglobin in 100 ccm Blut. Zahlen an den Kurven: Dosis Ortho-Aminophenol in mg je kg.

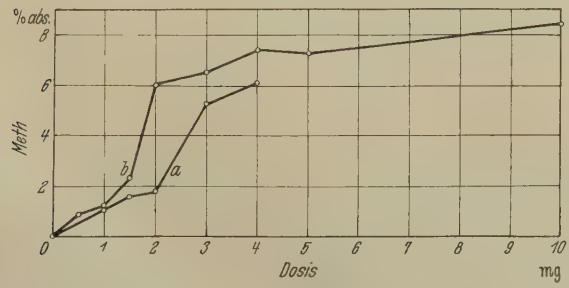


Abb. 2. Dosiswirkungskurve. *a*) für Ortho-Aminophenol, *b*) für Nitrosobenzol.

licher Sprung auf, wie ihn Schwedtke bereits früher bei seinen Anilinversuchen, allerdings an anderer Stelle der Dosenskala beschrieb (vgl. auch v. Issekutz).

b) Nitrosobenzol.

Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin sind verschieden löslich. Während das letztere in Wasser leicht löslich ist, löst sich das Nitrosobenzol darin kaum. Im Gegensatz zu v. Issekutz, der an Katzen frisch her-

gestellte 1%ige wässerige Lösungen von Phenylhydroxylamin subcutan verwandte, verabreichte ich das Nitrosobenzol frisch in Äther gelöst. Die Intensität und Zeitdauer der Methämoglobinbildung ist aus der Abb. 3 zu ersehen. Im Dosenbereich von 0,5 -1,5 mg kg wurde der Höhepunkt der Methämoglobinbildung in der ersten Stunde erreicht, die gewonnenen Werte sinken dann langsam und stetig wieder herab. Bei den Dosen

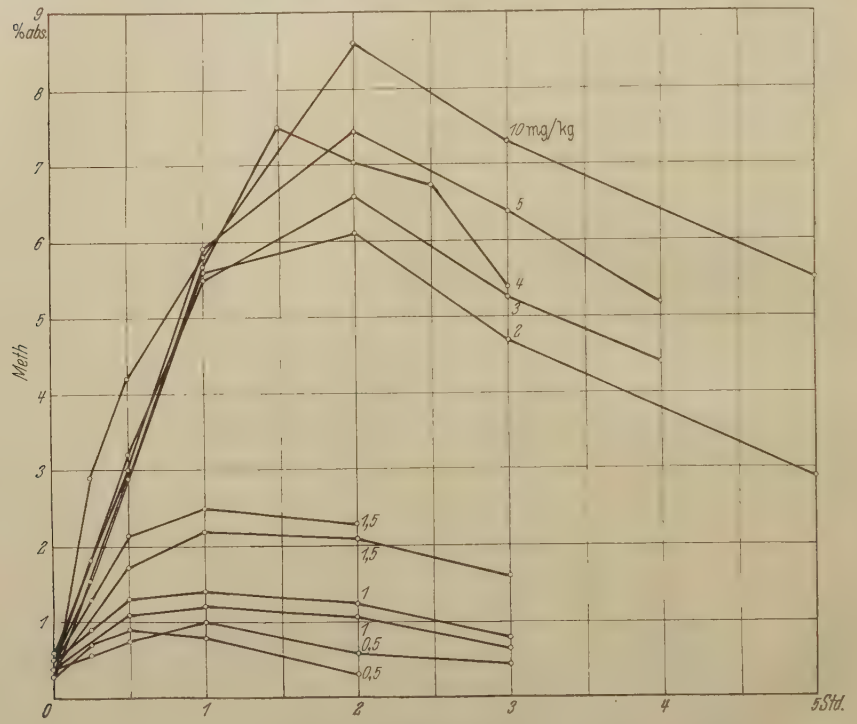


Abb. 3. Legende wie Abb. 1.

zwischen 2 und 10 mg/kg fand ich das Maximum in der zweiten Stunde, während später gleichfalls eine Verminderung eintrat. In einem dieser Versuche (Dosis: 4 mg/kg) trat das Maximum bereits nach $1^1/_2$ Stunden auf. Bei den Dosen bis einschließlich 1,5 mg/kg liegen die Höhepunkte zwischen 0,9—2,5 % Methämoglobin (absolut), während sie bei den Dosen von 2—10 mg/kg zwischen 6,1 und 8,6 % Methämoglobin zu finden sind. In beiden Dosenbereichen liegen die Methämoglobinwerte verhältnismäßig dicht zusammen. Nach diesen Versuchen treten offenbar auch beim Nitrosobenzol Unstetigkeiten in der Dosenwirkungskurve auf. Wie beim Ortho-Aminophenol sehen wir einen deutlichen Sprung zwischen 1,5 und 2 mg/kg (s. Abb. 2). Ein Versuch mit einer Dosis von 23,6 mg/kg Nitrosobenzol zeigte rasch ansteigende, hohe Methämoglobinwerte. Das Maximum wurde hier in der zweiten Stunde mit 14,3 % Methämoglobin erreicht,

worauf der Tod eintrat. Bei einem Hämoglobingehalt der Katze von 15,7 % in toto waren somit über 90 % des Hämoglobins in Methämoglobin übergeführt worden.

IV.

Besprechung.

Das Ortho-Aminophenol zeigte sich in meinen Versuchen bei einer Dosenhöhe von 3 und 4 mg/kg als kräftiger Methämoglobinbildner. (Maximum 5,4 und 6,3 % Methämoglobin absolut nach 2 Stunden.) Dosen von 1—2 mg kg ergaben Werte zwischen 1,2 und 1,8 %. Mit Para-Aminophenol in Dosen von 4, 6 und 10 mg/kg erhielt v. Issekutz nach 2 bis 4 Stunden Maxima von 1,3—2,3 %. Im vergleichbaren Dosenbereich ist also bei subcutaner Applikation die Methämoglobinbildung durch die Orthoverbindung wesentlich schneller und größer als durch die Paraverbindung. Dies entspricht der höheren Oxydationsfähigkeit der Orthoverbindungen, deren stärkere Wirkung auf das Blut übrigens schon in Heubners (2) Versuchen in vitro hervorgetreten war.

Bei Phenylhydroxylamin fand v. Issekutz die gebildete Methämoglobinmenge mit der Dosis ziemlich linear ansteigend. Nach einer Zeitdauer von $^1/_2$ bis längstens 1 Stunde hat sie ihr Maximum erreicht, um dann langsam herabzusinken. Bei meinen Untersuchungen mit geringen Dosen (0,5—1,5 mg/kg) Nitrosobenzol wurde gleichfalls der Höhepunkt der Methämoglobinbildung nach einer Stunde erreicht, doch waren die gewonnenen Werte keineswegs mit denen nach Phenylhydroxylamin zu vergleichen. Während v. Issekutz z. B. bei einer Dosis von 1 mg/kg nach einer Stunde ein Maximum von etwa 7,4 % Methämoglobin erreichte, fand ich bei dieser Dosis in der gleichen Zeit nur ein Maximum von 1,3 %. Mit 2 und 10 mg/kg Phenylhydroxylamin erreichte er das Methämoglobinmaximum bereits nach 20—30 Minuten, und zwar mit Werten, die um etwa 80 % höher lagen, als die in meinen Versuchen erst nach 2 Stunden erreichten Maxima. (Die Zahlen in der Arbeit v. Issekutz beziehen sich auf das kg Körpergewicht, sind also mit 0,7 zu dividieren, um für 100 ccm Blut zu gelten und damit mit den meinen vergleichbar zu werden.) Bei subcutaner Applikation verläuft somit die Methämoglobinbildung durch Nitrosobenzol beträchtlich langsamer und daher auch weniger intensiv als durch Phenylhydroxylamin.

Die am Nitrosobenzol von mir erhobenen Befunde stehen in einem gewissen Widerspruch zu den später unternommenen, doch schon vor längerer Zeit veröffentlichten Versuchen von Jung (8). Dieser injizierte jedoch bei einem Vergleich von Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin beide Substanzen in öliger Lösung intraperitoneal. Aus den dabei erhaltenen Befunden entnahm er, daß beide Stoffe Methämoglobin im Überschuß bilden und annähernd gleich wirksam sind. Jedoch fand sich auch hier ein geringer Unterschied in der Höhe der Methämoglobinbildung

zugunsten des Phenylhydroxylamins, den Jung auf das verschiedene physikochemische Verhalten zurückführt. Der sehr erheblich größere Unterschied in meinen Versuchen beweist in der Tat, daß die Verschiedenheit der Resorptionsfähigkeit ein ausschlaggebender Faktor für den Befund ist. Denn für die Wirkung des Phenylhydroxylamins ist in den Versuchen von Jung und v. Issekutz trotz verschiedenartiger Applikationsform kaum ein Unterschied zu erkennen; das abweichende Verhalten des Nitrosobenzols ist also wohl aus seiner so viel geringeren Löslichkeit in Wasser zu erklären. Die von Jung verabreichte intraperitoneale Injektion in Öl bewirkt eine rasche Verteilung auf eine große Oberfläche und die Berührung mit reichlich Lösungsmittel, während die von mir geübte Injektion in Äther unter die Haut ein Depot auf kleinem Raum setzt.

V.

Zur Theorie der Methämoglobinbildung durch aromatische Stickstoffverbindungen.

Dennoch verdient die Differenz der Wirkungsgeschwindigkeit und -intensität nach Zufuhr von Phenylhydroxylamin oder Nitrosobenzol noch von einer anderen Seite gewürdigt zu werden. Schon in der Arbeit von Jung (8) war die Möglichkeit offengelassen worden, der Kreisprozeß könnte kürzer verlaufen als auf dem Wege Phenylhydroxylamin—Nitrosobenzol—Phenylhydroxylamin, etwa über ein intermediär gebildetes Radikal. In dieser Frage hat — wie bereits oben erwähnt — eine neuere Arbeit von Hertel und Lebok (9) entscheidende Gesichtspunkte gebracht.

Bei elektrolytischer Reduktion eines Nitrosobenzols zum Phenylhydroxylamin in alkoholischer Lösung betrug die Stromausbeute $^1/_4$ mehr als die Theorie verlangt. Eine Untersuchung des Lösungsmittels ergab eine Bildung von Acetaldehyd, es hatte also die fehlenden Reduktionsäquivalente geliefert. Die Autoren erklären dies mit einer von der Kathode erfolgenden Abdiffusion eines bei der ersten Stufe der Reduktion entstehenden Radikals C_6H_5NOH. Dieses könne sich zum Teil mit dem Lösungsmittel umsetzen oder zu Azoxybenzol polymerisieren, endlich aber auch im nächsten Reduktionsschritt an der Kathode ein zweites Wasserstoffatom aufnehmen und in Phenylhydroxylamin übergehen.

Die Existenz eines Radikals wird damit viel wahrscheinlicher, als sie es seinerzeit für Jung gewesen ist. Heute würden wir also den postulierten Kreisprozeß z. B. folgendermaßen formulieren können:

$$1.\ 2\,C_6H_5NHOH + O = 2\,C_6H_5NOH + H_2O,$$
$$2.\ C_6H_5NOH + Hb + H_2O = C_6H_5NHOH + HbOH.$$

Eine kurze Überlegung zeigt eine Mehrzahl von Möglichkeiten, ihn noch anders auszudrücken. Vor allem fehlt in der hier gewählten Formulierung eine Kennzeichnung für das Auftreten von aktivem Sauerstoff in irgendeiner

Form. Denn tatsächlich erfolgt ja die Übertragung von allen vier Oxydationsäquivalenten eines Sauerstoffmoleküls auf Hämoglobin, was thermodynamisch ohne weiteres möglich ist und nur wegen der Reaktionsträgheit des Redoxsystems Methämoglobin—Hämoglobin eines Katalysators bedarf. Kommt es zur Bildung von Nitrosobenzol, so wird die Reaktionskette nicht abgebrochen, sondern, wie schon früher von Jung ausgeführt wurde, durch Reduktion desselben wieder neu in Gang gesetzt. Erst die Bildung von Azoxybenzol vermag den Vorgang endgültig zu beenden.

Wie Ellinger (3) feststellte, läßt sich nach Vergiftung mit Acetanilid aus dem Blute der Tiere Azetylphenylhydroxylamin isolieren. Auch diese Verbindung ist ein kräftiger Katalysator der Methämoglobinbildung, vermag aber nicht in eine Nitrosoverbindung, sondern nur in das genannte Radikal überzugehen. Damit wäre dieser Widerspruch zu unserer seitherigen Anschauung gelöst.

Ferner folgte aus der bisherigen Hilfsannahme einer dauernden Reduktion des Nitrosobenzols ein ziemlich reichlicher Verbrauch an reduzierenden Stoffen im Organismus. Wie Floren und Heite (12) festgestellt haben, ist dies anscheinend nicht der Fall. Bei Chlorat, Ferricyanid und Anilinverabreichung verändert sich weder der Vitamin C-Spiegel, noch der Glutathiolgehalt in Blut und Organen.

Da außerdem die jetzige Formulierung der Reaktion nicht mehr zweistufig ist wie früher, wird ihre allgemeine Wahrscheinlichkeit bedeutend größer. Auch schließt sie sich besser an sonstige wohlbekannte Reaktionen an, die zur Bildung von Methämoglobin führen, insonderheit an diejenige mit Ferricyanid. Endlich sei in Kürze noch ein weiterer Punkt berührt. Schwedtke (5) hat seinerzeit gegen die Vermutung, Phenylhydroxylamin sei der eigentlich wirksame Stoff, den Einwand vorgebracht, es werde schnell aus der Reaktionslösung durch Azoxybenzolbildung entfernt; dies ließ sich bei Versuchen in vitro auch tatsächlich nachweisen (13). Aus den von Hertel und Lebok gegebenen Daten geht aber hervor, daß unter den Bedingungen, die wir im Blute haben, die Zusammenlagerung viele Stunden dauern würde.

Zusammenfassung.

1. An Katzen wurde der Verlauf der Methämoglobinbildung nach subcutaner Applikation von Ortho-Aminophenol geprüft. Es zeigte sich, daß die Methämoglobinbildung durch die Orthoverbindung wesentlich schneller und intensiver vor sich geht als durch die Paraverbindung (nach v. Issekutz).

2. Ferner wurde der Verlauf der Methämoglobinbildung nach subcutaner Applikation von Nitrosobenzol verfolgt und mit früheren Versuchen über Phenylhydroxylamin (v. Issekutz) verglichen. Es zeigte sich, daß die Methämoglobinbildung durch Nitrosobenzol beträchtlich

langsamer und daher auch weniger intensiv verlief als durch Phenylhydroxylamin. Dieser Unterschied beruhte im wesentlichen auf verschiedener Löslichkeit und Resorptionsgeschwindigkeit.

3. Beide Substanzen zeigten wiederum einen auffälligen Sprung in der Dosiswirkungskurve, wie er schon bei mehreren anderen Methämoglobinbildnern der aromatischen Reihe beobachtet worden war.

4. Im Anschluß an die mit peritonealer Applikation von Nitrosobenzol erhaltenen Befunde von Jung wird der katalytische Reaktionsmechanismus der Methämoglobinbildung durch Phenylhydroxylamin erneut erörtert und unter Bezug auf neuere Ergebnisse der Chemiker Hertel und Lebok die Annahme vertreten, daß der katalytische Kreisprozeß in seiner oxydativen Phase nicht zweistufig bis zu Nitrosobenzol, sondern nur einstufig bis zum Radikal C_6H_5NOH führt.

Literatur.

1) Heubner, W.: Erg. Physiol. usw. **43**, 44 (1940). — 2) Heubner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **72**, 239 (1913). — 3) Ellinger: Z. physiol. Chem. **111**, 86 (1920). — 4) Lipschitz: Ebenda **109**, 189 (1920). — 5) Schwedtke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 121 (1937). — 6) Heubner, W., u. Lo Sing: Ebenda S. 143. — 7) Issekutz, B. v.: Ebenda **193**, 551 (1939). — 8) Jung: Ebenda **195**, 208 (1940). — 9) Hertel u. Lebok: Z. physiol. Chem. (B) **47**, 315 (1940). — 10) Havemann, Jung u. B. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 117 (1939). — 11) Havemann: Ebenda S. 105. — 12) Floren u. Heite: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 344 (1941). — 13) Heubner, W., Rolf Meier u. Rhode: Ebenda **100**, 149 (1923).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.

Untersuchungen über den Cholesterinstoffwechsel. (Zur Wirkungsweise der Artischocke.)

II. Mitteilung*.

Von

Ed. Keeser.

(Eingegangen am 13. Dezember 1941.)

Die Artischocke (Cynara scolymus) wird in Deutschland therapeutisch kaum verwendet, während sie in den südeuropäischen Ländern viel und zwar hauptsächlich bei Erkrankungen der Gallenwege (katarrhal. Icterus) und der Nieren sowie bei Störungen des Cholesterinstoffwechsels verwendet wird. Experimentell ist ihre Wirkungsweise noch wenig erforscht, und ebenso wenig ist über das in ihr enthaltene wirksame Prinzip bekannt. Letzteres soll nach Morellet [1] ein Oxyanthrachinonglykosid sein, während Chabrol und Mitarbeiter [2] annehmen, daß es sich um einen cyclischen Körper von Phenolcharakter handelt.

Dafür, daß die Artischocke galletreibend wirkt, sprechen die Befunde mehrerer Autoren. Nach Chabrol u. Mitarb. (l. c.) hat Verabfolgung von Artischocke eine Vervierfachung der Gallensekretion zur Folge, wobei der Gehalt der Galle an Trockensubstanz erheblich vermehrt ist; ebenso beobachtete Tixier [3] eine Zunahme der Sekretion von Galle sowie eine Änderung ihrer Zusammensetzung unter dem Einfluß der Artischocke. In Übereinstimmung hiermit fanden Koref und Mitarbeiter [4] experimentell bei Hunden nach der intravenösen Zufuhr von Artischockenmaceraten, -decocten und -perkolaten eine erhebliche Vermehrung der Gallensekretion, die durch Atropin unterdrückt werden konnte. Wie Okamoto [5] fand, steigert weiter ein Decoct aus Artischockenblättern die Fähigkeit der Leber und der Nieren Farbstoffe auszuscheiden. Derselbe Autor berichtet ferner von einer Abnahme des Bilirubingehalts im Blute bei Kranken, die an Icterus catarrhalis litten und Artischockenblätter erhielten [6].

Daß die Verabfolgung von Artischocken die Funktion der Nieren beeinflußt, beobachtete außer Okamoto [6] auch Tixier (l. c.). Nach diesem Autor besitzt die Droge nicht nur eine diuretische Wirkung, sondern

---

* Vgl. Keeser, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 536 (1941).

[1] Morellet: J. Méd. 1930; zit. nach Chabrol [2]. — [2] Chabrol, E., R. Charomat, M. Maximin u. R. Weitz: C. r. Soc. Biol. Paris **108**, 1020 (1931). — [3] Tixier, L.: Presse méd. 1939, I, S. 880. — [4] Koref, O. und Mitarb.: Rev. instit. bacteriol. Chile **6**, 63 (1938). — [5] Okamoto, M.: Mitt. med. Akad. Kyoto **29**, 259 (1940). — [6]) Okamoto, M.: Ebenda **28**, 1041 (1940).

bewirkt auch eine Zunahme der Konzentration des Harns sowie der Ausscheidung N-haltiger Substanzen. Letztere hat eine Änderung der Höhe des Blut-N zur Folge, an der angeblich eine Förderung der Harnstoffsynthese beteiligt ist.

In eigenen Versuchen wirkte der Artischockenauszug Chophytol (herstellende Firma: Laboratoires Rosa, Paris) in einer Verdünnung 3 : 100 auf die Muskulatur des Blutegels schwach tonussenkend.

Am isolierten Froschherzen hatte dieser Artischockenextrakt in einer Verdünnung 1 : 200 eine leichte Verminderung der Systole und Diastole zur Folge, die auswaschbar war. Bei einer Konzentration von 1 : 100 war diese Wirkung noch stärker. Unter der Wirkung von Chophytol 1 : 50 kam es zum Herzstillstand. Nach Ersatz des Chophytols durch Tyrode begann das Herz prompt wieder kräftig und regelmäßig zu schlagen.

Bei geschädigten, unregelmäßig arbeitenden Herzen bewirkte Zusatz von Chophytol (1 : 200) zwar eine vorübergehende Verkleinerung der Systole und Diastole, im übrigen jedoch eine Regularisierung der Herztätigkeit. Gleichzeitig wurde die Herzaktion schneller. Noch deutlicher trat diese Wirkung nach Zusatz von Chophytol in einer Konzentration von 1 : 100 auf.

Die Gefäßwirkung des Artischockenauszuges wurde am isolierten Kaninchenohr nach der Methode von Krawkow-Pissenski[7] geprüft. Hierbei wurde gefunden, daß Chophytol selbst in einer Konzentration von 1 : 50 einen Einfluß auf die Gefäßweite nicht besaß.

Bei der Katze (Urethan-Narkose) bewirkte die intravenöse Zufuhr von 1 ccm des 1 : 50 verdünnten Chophytols eine Senkung des Blutdrucks und Beschleunigung der Atmung. Wurden 0,1 mg Adrenalin und sofort anschließend die genannte Menge Chophytol intravenös gegeben, so kam es nicht zur vollen Entwicklung der Adrenalinwirkung, sondern zu einer gegenüber der Wirkung des reinen Chophytols verstärkten — Blutdrucksenkung. Das gleiche Verhalten wurde auch beobachtet, wenn an Stelle des Gesamtauszuges von Artischocken die in Ampullen im Handel befindliche Chophytollösung verwendet wurde.

Die blutdrucksenkende Wirkung von 0,003 mg Azetylcholin wurde durch das sofortige Nachspritzen von 1 ccm Chophytol (1 : 50) nicht verstärkt, sondern entsprach lediglich dem Einfluß des Azetylcholins.

Die blutdrucksenkende Wirkung von 0,3 mg Ergotamin wurde ebenfalls durch die genannte Menge Chophytol nicht beeinflußt.

Am isolierten Kaninchendarm hatte Chophytol in einer Konzentration von 2 : 100 eine Abnahme des Tonus und ein Kleinerwerden der Pendelbewegungen zur Folge. Beide Wirkungen waren durch Tyrode prompt auswaschbar. — Die erregende Wirkung von $BaCl_2$ (4 mg%)

[7] Krawkow-Pissenski: Wratsch 1912, Nr. 8, siehe auch Rischbieter: Z. exper. Med. **1**, 355 (1913).

wurde durch Chophytol (2 : 100) sofort aufgehoben, wobei die Darmperistaltik unregelmäßig wurde. Ebenso wirkte Chophytol antagonistisch auf die erregende Wirkung von 0,0017 mg% Azetylcholin.

Insbesondere von Schönholzer[8] wurden Untersuchungen über den Einfluß von Cynara scolymus auf den Cholesterinstoffwechsel durchgeführt, aus denen hervorgeht, daß durch Zufuhr eines Artischockenpräparates nicht nur die Höhe des Cholesterinspiegels im Blut gesenkt, sondern auch die Fähigkeit des Blutes, Cholesterin in Lösung zu bringen (Cholesterinolyse) bzw. zu halten, beträchtlich gesteigert wird.

Auf welche Weise Arzneimittel die Cholesterinolyse zu fördern bzw. zu hemmen vermögen, ist bisher nicht bekannt. Nach Schönholzer[8] wird die Senkungsgeschwindigkeit des Blutes nach Zufuhr von Cynara scolymus nicht verändert; dieser Autor konnte auch keine eindeutigen Veränderungen in den Eiweißverhältnissen des Blutes unter dem Einfluß der Zufuhr des Artischockenauszuges Chophytol feststellen. Eigene Versuche[9] schienen dafür zu sprechen, daß es hierbei zu einer Beeinflussung des prozentualen Eiweißgehalts im Blut kommt. Zur Sicherstellung dieser Befunde wurden nüchternen Kaninchen 0,25 mg Ergotamin, 10 mg Atropin, 5 mg Papaverin, 200 mg Jodkalium bzw. 5 ccm Chophytol intravenös injiziert und 1 Stunde später der Gehalt des Blutes an Hämoglobin und an Erythrocyten ebenso bestimmt, wie es vor der Zufuhr der genannten Arzneimittel geschehen war. Die hierbei erhaltenen Werte unterschieden sich von den Ausgangswerten des Hämoglobins und der Erythrocyten jedoch so wenig, daß sie innerhalb der Schwankungsbreite liegen, die bei unbehandelten Kontrolltieren erhalten wurde. Beachtenswerte Änderungen des Gehalts des Blutes an Flüssigkeit und, hierdurch bedingt, in seinem prozentualen Eiweißgehalt wurden somit durch die genannten Arzneimittel in den angewendeten, nicht toxischen Dosen nicht hervorgerufen. Einen Hinweis für eine Erklärung der medikamentösen Beeinflussung der Cholesterinolyse geben somit weder diese mit den Befunden Schönholzers übereinstimmenden noch die früher mitgeteilten[9] Ergebnisse.

Die Annahme von Oberdörffer[10], daß beim Ausschütteln von Organen mit Äther, Chloroform, Aceton usw. nicht alles Cholesterin in die genannten Lösungsmittel übergeht, sondern daß ein Teil des Cholesterins in Form einer Cholesterin-Eiweißverbindung im Gewebe bleibt, hat sich nach einer schriftlichen Mitteilung von Prof. Butenandt, Berlin-Dahlem, als Irrtum herausgestellt und kann daher nicht aufrechterhalten werden. Die von uns früher mitgeteilten Befunde[9] können daher auch nicht auf die vermehrte oder verminderte Bildung von Cholesterin-Eiweißverbindungen zurückgeführt werden.

[8] Schönholzer, G.: Schweiz. med. Wschr. 1939, II, S. 1288; Helvet. Med. Acta **6**, 692 (1940). — [9] Keeser, Ed.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 536 (1941). — [10] Oberdörffer, M.: Naturw. Jahrg. 28, S. 379 (1940).

Tixier und Okamoto (l. c.) stellten ebenso wie Schönholzer (l. c.) bei Hypercholesterinämie unter der Wirkung eines Artischockenauszuges ein Absinken des Blutcholesterins fest, wobei nach Okamoto der Gehalt des Blutes an Cholesterinestern und der Esterquotient erheblich zunahm. Dieser letztgenannte Befund wurde von uns einer Nachprüfung in vivo unterzogen, da er bei Versuchen in vitro nicht beobachtet werden konnte[9]. Hierbei injizierten wir unter Verbreiterung der Versuchsgrundlage Hunden 5 Tage lang täglich je 5 ccm des Artischockenauszugs Chophytol, 0.3 g JK, 2 mg Atropin. sulfuric., 20 mg Papaverin. sulfuric. bzw. 150 mg Novocain. hydrochloric. subcutan und bestimmten 1 Stunde nach der letzten Applikation dieser Arzneimittel den Gehalt des Blutes an Cholesterin ebenso, wie es vor Beginn des Versuchs geschehen war. Hierbei ergab sich folgendes:

Tabelle 1.

Ausgangswerte				Endwerte		
Ges. Cholesterin	Cholesterinester	% Cholesterinester	5 Tage lang Verabfolgung von täglich	Ges. Cholesterin	Cholesterinester	% Cholesterinester
in mg%				in mg%		
278,5	204,5	73,4	5 ccm Chophytol	307,8	233,5	75
			Nach weiteren 8 Tagen mit tägl. 5 ccm Chopyhtol	231	164	70,8
232	167	72	0,3 g JK	203,5	145,2	71
121	78	64	20 mg Papaverin	97,8	62,7	62,6
186,5	139	74	2 mg Atropin	132	101	76
102,7	69,7	67,8	150 mg Novocain	111,7	79,7	71
123,2	86,1	70	Kontrolltier	125,7	87,3	69

Diese Versuche ergaben, daß

1. unter der Wirkung von Chophytol es zunächst zu einem Anstieg des Gesamtcholesterins, den auch Schönholzer (l. c.) beobachtete, sowie des Esterquotienten (vgl. Okamoto, l. c.) kommen kann;

2. beim unbehandelten Tier Schwankungen des Esterquotienten um 1—2% physiologisch sind;

3. aus derart kleinen Schwankungen des Esterquotienten Schlußfolgerungen nicht gezogen werden können, wenn sie im Verlauf der Zufuhr eines Arzneimittels beobachtet werden.

4. Während bei unseren in vitro angestellten Versuchen Atropin eine starke Hemmung der Esterbildung bewirkte, erhöhte sich unter seinem Einfluß in vivo der Esterquotient ebenso wie unter demjenigen des Novocains. Diese Divergenz der in vitro und in vivo erhaltenen Befunde zeigt, daß der Cholesterinstoffwechsel unter dem Einfluß eines sehr komplexen Regulationsmechanismus steht.

5. Wenn in unseren Versuchen auch der Esterquotient unter dem Einfluß von Chophytol, JK und Papaverin eine sinkende, unter demjenigen

von Atropin und Novocain eine steigende Tendenz aufwies, so sind die erhaltenen Unterschiede doch zu gering, als daß aus ihnen Schlüsse auf die Ursache des Einflusses der genannten Arzneimittel auf die Cholesterinolyse [z. B. Beeinflussung der Löslichkeit des Cholesterins (vgl. Keeser, l. c.)] gezogen werden könnten.

Es gelang somit bisher nicht, die Ursache des Einflusses von Arzneimitteln auf das cholesterinolytische Vermögen des Blutes zu klären. Da indessen dieser Wirkungsmechanismus praktisch wichtig erscheint, untersuchten wir in Ergänzung unserer bereits mitgeteilten Befunde[9] noch einige weitere Arzneimittel auf ihre cholesterinolytische Wirksamkeit. Hierbei gingen wir in der angegebenen Weise[9] vor und verabfolgten Hunden eine Woche lang täglich 4 mg Atropin. sulfuric., 200 mg Novocain. hydrochloric., 20 mg Papaverin. sulfuric., 0,5 mg Prostigmin bzw. 0,3 g Rhodankalium subcutan, 0,3 g Theobromin. Natr. salicylic. per os oder 4 g Aceton als Einlauf rectal. 1 Stunde nach der letzten Applikation eines dieser Stoffe wurde den nüchternen Versuchstieren ebenso Blut zur Bestimmung des Cholesteringehalts und der Cholesterinolyse entnommen, wie es vor Beginn des Versuchs geschehen war. Hierbei wurde folgendes gefunden:

Tabelle 2.

Untersuchte Substanz	Cholesterinspiegel in Serum in mg %		Cholesterinolyse in mg %	
	vor der Behandlung	nach der Behandlung	vor der Behandlung	nach der Behandlung
Atropin. sulfuric.	206	233	+ 36,5	+ 19,25
Novocain. hydrochloric.	173	177	+ 21	+ 16,8
Prostigmin	153,3	127,7	+ 4,45	− 20,5
Papaverin. sulfuric.	148,5	134,5	+ 8,5	+ 6,0
Aceton	142,7	131	+ 1,6	+ 1,25
Rhodankalium	102,5	207	+ 3,3	+ 8,0
Theobromin. Natr. salicylic.	351	342,5	+ 7,0	+ 28,7

Nach diesen Versuchen hemmten Atropin, Novocain und Prostigmin die Cholesterinolyse; Rhodankalium und Theobromin. Natr. salicylic. förderten sie, während Papaverin und Aceton wirkungslos waren.

Zusammenfassung.

1. Nach den Angaben der Literatur wirkt die Artischocke (Cynara scolymus) galletreibend sowie diuretisch und erhöht die cholesterinolytische Fähigkeit des Blutes.

2. In eigenen Untersuchungen wirkte der Artischockenauszug Chophytol tonussenkend auf die Blutegelmuskulatur, schädigend auf die Funktion des isolierten Froschherzens sowie blutdrucksenkend, ohne die Weite der Gefäße des isolierten Kaninchenohrs zu beeinflussen. Er be-

wirkte ferner eine Abnahme des Tonus und der Pendelbewegungen am isolierten Kaninchendarm.

3. Änderungen im Eiweiß- bzw. Flüssigkeitsgehalt des Blutes sowie im Quotienten der Cholesterinester traten unter dem Einfluß des Artischockenauszuges und anderer daraufhin geprüfter Arzneimittel nur innerhalb des physiologischen Schwankungsbereiches auf, so daß aus ihnen Schlußfolgerungen für eine Erklärung der medikamentösen Beeinflussung der Cholesterinolyse nicht gezogen werden können.

4. In vitro erhaltene Befunde über den Cholesterinstoffwechsel können nach unseren Versuchen nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden.

5. Adrenalin, Calcium, Atropin und Azetylcholin setzten, wie bereits mitgeteilt, die cholesterinolytische Fähigkeit des Blutes herab, während der Artischockenauszug Chophytol, JK und Ergotamin sie erhöhten. In weiteren Versuchen wurde gefunden, daß Prostigmin und Novocain die Cholesterinolyse herabsetzten, Rhodankalium und Theobromin. Natr. salicylic. sie erhöhten und Papaverin sowie Aceton sie nicht beeinflußten.

COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB9

41B212

D. HULLER
BINDER
BOSTON, MASS.